

**Nasale Potentialdifferenzmessung: Zum Einfluß von körperlicher Belastung,
Kaltluftexposition und Amloridpulver**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

des Fachbereichs Humanmedizin

der Justus-Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von Andreas Johannes Alfred Krahel

aus Hanau

Gießen 2001

Aus dem Medizinischen Zentrum für Kinderheilkunde und Jugendmedizin
Selbständiger Funktionsbereich Pädiatrische Pneumologie und Allergologie

Leiter: Prof. Dr. Lindemann
des Universitätsklinikums Gießen

Gutachter: Prof. Dr. Lindemann

Gutachter: PD Dr. Walmrath

Tag der Disputation: 22. August 2002

WIDMUNG

Diese Doktorarbeit ist allen Mukoviszidose-Patienten der Justus-Liebig-Universitätsklinik zugedacht.

Insbesondere möchte ich sie Niko Kreuttner widmen, einem jener Patienten, die durch ihre regelmäßige Teilnahme an unseren Untersuchungen die vorliegende Arbeit erst ermöglicht haben.

Im Gedenken an die Patienten, die in der Zeit der Erstellung dieser Doktorarbeit an der Mukoviszidose gestorben sind.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	
1.1	Allgemeines	6
1.2	Geschichte	6
1.3	Genetik	7
1.4	Molekularbiologie	9
1.5	Pränatale Diagnostik	11
1.6	Allgemeine Diagnostik	11
1.7	Transepitheliale Potentialdifferenz	12
1.8	Therapie	14
1.9	Prognose	14
1.10	Zielsetzung der vorliegenden Arbeit	16
2	Methodik	
2.1	Material und Methodik der PD-Messung	17
2.1.1	Aufstellung des verwendeten Materials und der Geräte	17
2.1.2	Versuchsaufbau	19
2.1.3	Herstellung der Agargelbrücken	22
2.1.4	Vorgehen bei der Messung	22
2.2	Vergleich von verschiedenen Methoden zur CF- Diagnostik	27
2.2.1	Iontophorese	27
2.2.1.1	Methode	27
2.2.1.2	Grenzwerte	28
2.2.2	Elastase-1-Bestimmung	29
2.2.2.1	Methode	29
2.2.2.2	Grenzwerte	29
2.2.3	DNA-Diagnostik	30
2.2.3.1	Methode	30
2.2.3.2	Mutationstypen	31
2.2.4	PD-Messung: Sensitivität und Spezifität	32

2.3	Material und Methodik bei Fahrradergometrie und Fahrradergometrie mit Kaltluftexposition	33
2.3.1	Material	33
2.3.2	Durchführung	33
2.4	Pilotstudie zur Wirksamkeit von Amiloridpulver	34
2.4.1	Material	34
2.4.2	Durchführung	36
2.5	Untersuchungskollektiv	37
2.5.1	Sensitivitäts- und Spezifitätsbestimmung	38
2.5.2	Vergleich Potentialdifferenzmessung – Iontophorese	38
2.5.3	Vergleich von Potentialdifferenzmessung - Elastase 1-Bestimmung	39
2.5.4	Vergleich Potentialdifferenzmessung – Gentest	39
2.5.5	Fahrradergometrische Untersuchungen	39
2.5.6	Patientenkollektiv: Kaltluftexposition und Fahrradergometrie	40
2.5.7	Patientenkollektiv: Amilorid in Pulverform	40
2.6	Statistische Methoden	41
3	Ergebnisse	
3.1	Vergleich zwischen Potentialdifferenzmessung und verschiedenen diagnostischen Methoden	42
3.1.1	Sollwertbereich Gesunder, Meßwertbereich von CF- Patienten	42
3.1.2	Iontophorese und Potentialdifferenzmessung unter Ruhebedingungen	43
3.1.3	Potentialdifferenzmessungen und Elastasebestimmungen im Stuhl	46
3.1.4	Potentialdifferenzmessung und DNA-Analysen	48
3.2	Sensitivität und Spezifität der Potentialdifferenz	50

3.3	Veränderungen der Potentialdifferenzmessung unter Einwirkung der Fahrradergometrie	51
3.3.1	Potentialdifferenzmessungen bei Gesunden vor und nach der Fahrradergometrie	51
3.3.2	Potentialdifferenzmessungen bei CF-Patienten vor und nach der Fahrradergometrie	56
3.4	Veränderungen der Potentialdifferenzmessung unter Kaltluftexposition während der Fahrradergometrie	60
3.4.1	Potentialdifferenzmessungen bei Gesunden vor und nach der Fahrradergometrie mit Kaltluftexposition	60
3.4.2	Potentialdifferenzmessungen bei CF-Patienten vor und nach der Fahrradergometrie mit Kaltluftexposition	62
3.4.3	Bilanz des Vergleiches Fahrradergometrie ohne und mit Kaltluft	64
3.5	Pilotstudie zur Wirksamkeit von Amiloridpulver	65
3.5.1	Änderung der Potentialdifferenz durch Applikation von Amiloridpulver	65
3.5.2	Zeitverlauf der Amiloridsenkungen	69
4	Diskussion	
4.1	Hintergrund	72
4.2	„Sollwertbereich“ für die nasale Potentialdifferenz	73
4.3	Vergleich verschiedener diagnostischer Methoden	73
4.4	Sensitivität und Spezifität der Potentialdifferenz	77
4.5	Fahrradergometrie	79
4.6	Amiloridpulverinhalation	81
4.7	Fazit und Ausblick	82
5	Zusammenfassung	83
6	Literaturverzeichnis	84
7	Anhang	103

1 Einleitung

1.1 Allgemeines

Die Bezeichnung Mukoviszidose leitet sich aus den beiden lateinischen Wörtern Mucus (= Schleim) und viscidus (= zäh) ab. Im angloamerikanischen Sprachraum wird der Begriff Cystic Fibrosis (= CF) bevorzugt. Die Mukoviszidose ist mit einem Vorkommen von 1 auf 2500 Lebendgeborenen die häufigste angeborene Stoffwechselkrankheit mit ernster Prognose im europäischen Raum [13,39,117,151]. Sie betrifft die Sekretproduktion der exokrinen Drüsen wie die seromuköse Drüsen der bronchialen Mukosa, des Pankreas, der Leber (Galle), der Tränendrüsen, der Schweißdrüsen und des Samenleiters [35,49,70,136].

1.2 Geschichte

Die Mukoviszidose scheint eine recht alte Krankheit zu sein. Erste Hinweise auf klinische Symptome der Krankheit stammen bereits aus der Zeit um 3000 v.Chr. [25]. Weitere frühe Beschreibungen einer CF-Symptomatik finden sich in Überlieferungen aus dem 17. Jahrhundert, die von einer geringen Lebenserwartung „salzig schmeckender Kinder“ berichten [25,113,157]. Der erste medizinische Fallbericht wurde zwei Jahrhunderte später von Carl von Rokitansky im Jahre 1838 vorgelegt [25]. 1905 wurde der Mekoniumileus beschrieben [88]. Als eigenständige Krankheit wurde die Mukoviszidose allerdings erstmals zu Beginn des 20. Jahrhundert durch Fanconi beschrieben [45]. 1938 fand Dr. Dorothy Anderson in New York Zysten und Fibrosen in den Bauchspeicheldrüsen verstorbener Patienten, was sie zu der Bezeichnung „cystische Fibrose des Pankreas“ führte [4]. Während der 40er Jahre wurde klar, daß die Erkrankung auch andere Organe betrifft und erblich ist [96]. 1953 wurde erstmals eine erhöhte Elektrolytkonzentration im Schweiß nachgewiesen [38]. Erst Quinton stellte 1983 fest, daß die Ursache der Erkrankung in einem Chloridkanaldefekt liegt [108]. Seit 1985 ist bekannt, daß der Gendefekt, der die Mukoviszidose bedingt, sich auf dem langen Arm des Chromosom 7 befindet [84,135,146]. Lokalisiert und sequenziert wurde das verantwortliche Gen schließlich 1989 [71,113,115].

1.3 Genetik

Der Erbgang der Mukoviszidose ist autosomal rezessiv [96]. Aufgrund der Gesetze der formalen Genetik kommt es demzufolge in Europa zu einer Heterozygotenfrequenz von 1:20 bis 1:25. Bei der negroiden Rasse hingegen werden Prävalenzen zwischen 12.000-17.000 angegeben, was ungefähr einer Heterozygotenfrequenz von 1:200 entspricht [40,56,61,107], während das Auftreten in der mongolischen Rasse nur sporadisch ist. Heterozygote Genträger sind phänotypisch gesund und weisen auch in keinem Screeningtest pathologische Werte auf [83].

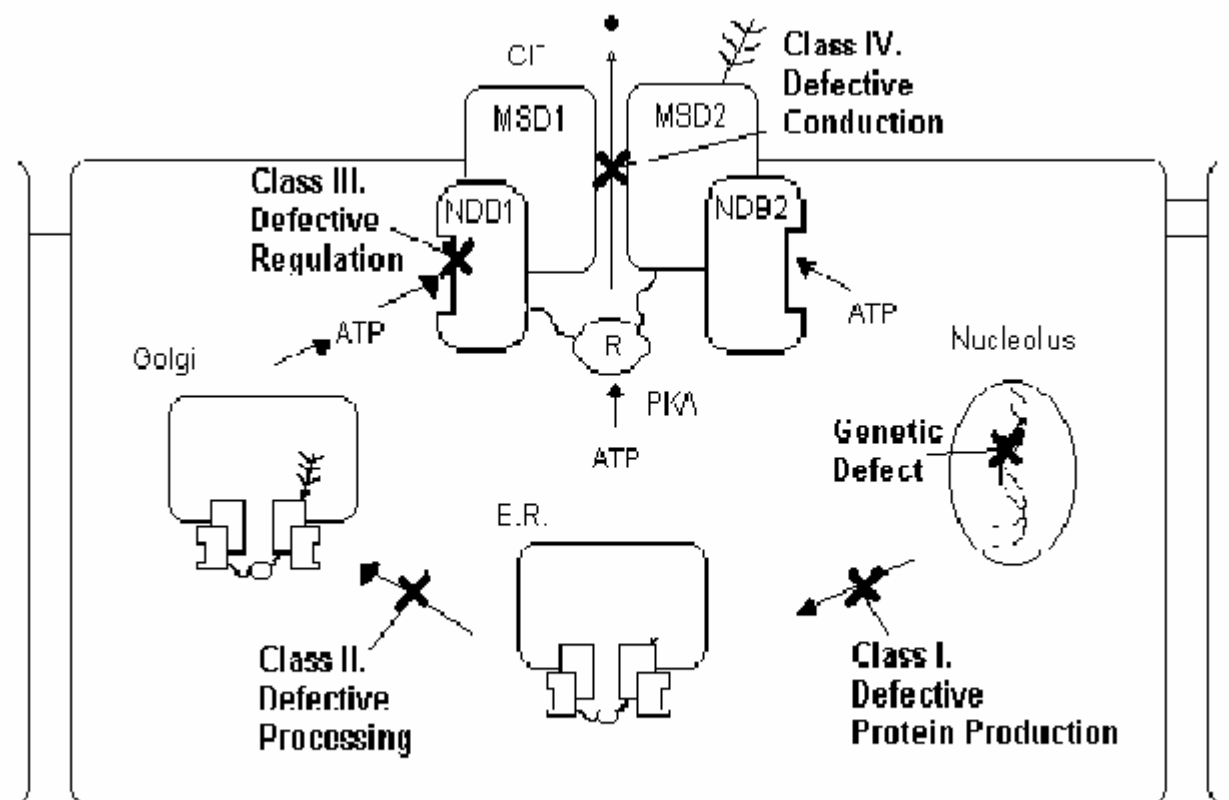
Das verantwortliche Gen ist an der Position 7q31 lokalisiert [24,30,113]. Dieses sogenannte CFTR-Gen (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator-Gen) enthält ca. 250 Kilobases über 27 Exons und kodiert das transmembrane chloridflußregulierende Protein aus 1480 Aminosäuren [57,71,113,115]. Bei Mukoviszidose wird dieses Protein nicht oder nur defekt gebildet bzw. erreicht nicht die apikale Zellmembran, was zum Chloridkanaldefekt führt [49,130,134]. Die Sequenzanalyse zeigt, daß die Mutation D-F508, d.h. die Deletion der Aminosäure Phenylalanin in Position 508 des Glykoproteins, in Europa mit 70-75 % deutlich am häufigsten auftritt [57,71,118]. Weitere häufige Mutationen sind: R553X, N1303K, G542X, G551D und R347P [43,53,139]. Insgesamt sind bisher über 950 Mutationen bekannt, die mit dem Krankheitsbild der Mukoviszidose einhergehen, wobei die Tendenz weiterhin steigend ist, weil ständig neue Mutationen entdeckt werden [150,161].

Je nach Gendefekt kommt es an den verschiedensten Stellen der Proteinherstellung zur Störung. Demnach lassen sich die CF-Mutationen in sechs verschiedene Gruppen einteilen [40,162]:

- Gruppe I: Defekte Proteinbiosynthese
- Gruppe II: Defekte Proteinverarbeitung (Reifung oder Transport)
- Gruppe III: Defekte Regulation des CFTR-Ionenkanals
- Gruppe IV: Defekte Ionenleitfähigkeit des CFTR-Kanals
- Gruppe V: Störungen in Wechselwirkung mit anderen Proteinen
- Gruppe VI: Verminderte CFTR-Konzentration.

Abbildung 1 veranschaulicht die Defekte, die im Falle der Mutationsgruppen I bis IV vorliegen:

Abb. 1: Defekte der Mutationsgruppen I bis IV [151]



Je nach Gruppe bzw. Mutation kommt es zu einem mehr oder weniger starken Schweregrad der Mukoviszidose, wobei eine große Variationsbreite der phänotypischen Ausprägung zu bestehen scheint [72,137,162]. Die höchste Korrelation besteht zwischen Pankreassuffizienz und Mutationstyp, die geringste zwischen Lungensymptomatik und Mutationstyp [161].

1.4 Molekularbiologie

Der Ionentransport über die apikale Membran ist für die Zusammensetzung des Schleims im respiratorischen Epithel maßgeblich. Dieser Ionentransport erfolgt aufgrund der Semipermeabilität der Zellmembran nur durch Kanäle bzw. durch energieverbrauchende Transportsysteme. Wasser hingegen folgt den Ionen passiv nach. Die beiden entscheidenden Ionen sind das Chlorid und das Natrium, deren Transport aufgrund des Gendefektes gestört ist. Im Folgenden soll jedoch zunächst die Situation an einer gesunden Zelle betrachtet werden:

Der Chloridtransport an der apikalen Membran der Zelle erfolgt auf folgenden Wegen:

1. Über den cAMP-regulierte Chloridkanal, der dem Glykoprotein des CFTR-Gens entspricht [5,37,68,121];
2. Durch einen mit Ca^{2+} aktivierbaren Chloridkanal, der über die Kalzium-abhängige Proteinkinase (Typ II, CAM-Kinase) aktiviert wird; dieser Kanal wird aufgrund seiner nach außen gerichteten Spannungskennlinie auch als „outwardly rectifying chloride channel“ (ORCC) bezeichnet [14,15,49].
3. Manche Autoren berichten über einen Chloridkanal, der durch Zellschwellung aktiviert wird [49].

An der basalen Membran gelangt das Chlorid über den $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ Co-Transporter in die Zelle.

Der Natriumtransport verläuft dem Chloridtransport entgegengesetzt:

Natrium wird durch einen Kanal auf der apikalen Seite in die Zelle aufgenommen und an der basolateralen Membran durch eine energieverbrauchende Na^+/K^+ -ATPase gegen Kalium ausgetauscht (s. Abb. 2) [14,15,83].

Neben diesen Vorgängen kommt es auch zu parazellulären Transportvorgängen, auf die hier jedoch nicht näher eingegangen werden soll [19,79,83].

Im Falle der Mukoviszidose ist sowohl der Chlorid- als auch der Natriumionentransport durch den Defekt des CFTR-Gens gestört (Abb. 2).

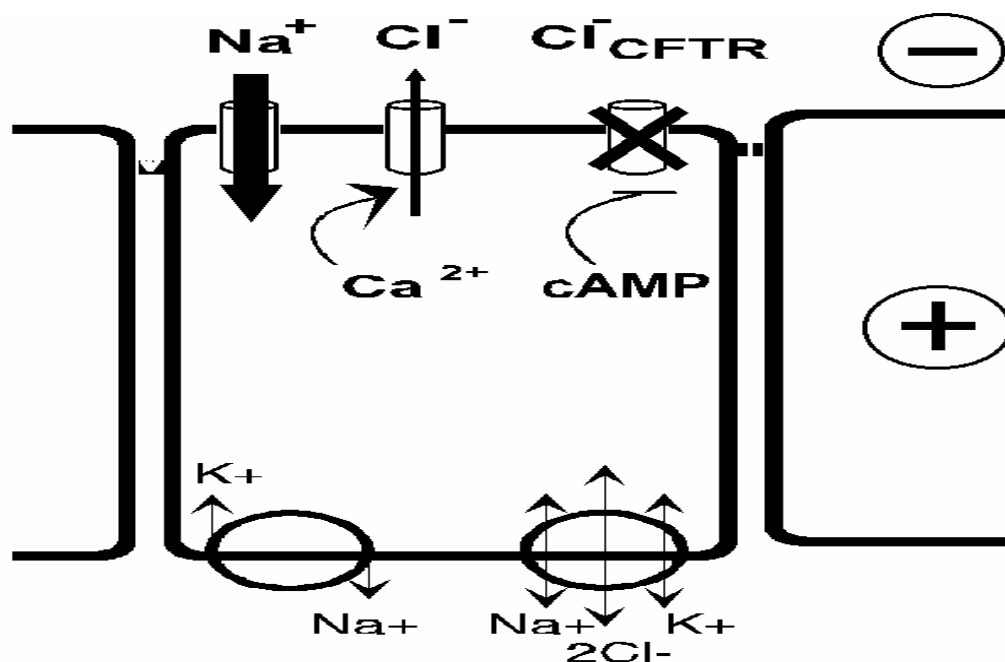
Je nachdem, inwieweit der Chloridkanal gestört ist, verändert sich die Chloridsekretion von einer nur leichten Reduktion des Chloridstromes bis hin zur totalen Blockade [83,108,109]. Zu beachten ist jedoch, daß der Ausfall der Chloridsekretion nicht durch ein Fehlen, sondern durch eine Aktivitätsstörung der Chloridkanäle bedingt ist [149,152].

Dieser Funktionsausfall des CFTR-Chloridkanals kann teilweise, wenn auch fast immer insuffizient, durch den Ca^{2+} abhängigen Chloridkanal kompensiert werden [5,6].

Neben dieser Chloridkanalstörung ist auch die Natriumresorption verändert:

Es kommt zu einer erhöhten Natrium-Rückresorption und damit zu einem verstärkten Wassereinstrom in die Zellen, der zu einer Viskositätszunahme sowie einer Elektrolytkonzentrationsänderung in den Sekreten führt [20,49,69,83,123,152,155].

Abb. 2: Darstellung des Ionentransports einer CF-Zelle (Erläuterung im Text)



Diese Störungen führen u.a. zu dem bekannten hohen Natriumchloridgehalt des Schweißes, wobei sowohl die sekretorischen Drüsenknäuel als auch die für die Rückresorption verantwortlichen Drüsengänge betroffen sind. Die mangelnde Rückresorption in den Drüsengängen führt zu einem hypertonen Endschweiß der meisten CF-Kranken gegenüber dem eines Gesunden [11,12,50,67,82,110].

Besonders folgenschwer ist diese Elektrolytänderung in den Lungen und im Pankreas. In den Lungen führt sie zu einer Erniedrigung der mukoziliären Clearance [33,85,96,129] und bereitet so den Boden für bakterielle Infektionen [111] (insbesondere mit *Pseudomonas aeruginosa* [138]). In der Bauchspeicheldrüse kommt

es durch die Elektrolytstörung zu einer Sekretretention und Obstruktion der Ausführungsgänge, was schließlich in einer exokrinen Pankreasinsuffizienz mündet.

Weiterhin umstritten ist die Tatsache, ob auf der Schleimhaut der Lunge isotone Verhältnisse vorliegen, wie von der Arbeitsgruppe um Boucher postuliert [8,98], oder ob eine hypertone Situation vorliegt, wovon die Arbeitsgruppe von Welsh ausgeht [159]. Laut Boucher ist das Entscheidende an den pathophysiologischen Vorgängen, daß das Volumen der Flüssigkeitsschicht über der Lungenschleimhaut, der sogenannte epithelial lining fluid (periziliäre Flüssigkeit), vermindert ist. Dadurch kann ein effektiver Transport des Mukus über die mukoziliäre Clearance behindert oder sogar blockiert werden [98].

1.5 Pränatale Diagnostik

Es besteht die Möglichkeit, zwischen der 7. und 12. Schwangerschaftswoche durch eine Chorionzottenbiopsie einen pränatalen Gentest vorzunehmen und auf die Mutation des Indexpatienten hin zu untersuchen [22,105,132]. Von vielen Betroffenen wird diese Form der Diagnostik jedoch abgelehnt.

1.6 Allgemeine Diagnostik

Ein flächendeckendes *Neugeborenenscreening* z.B. mittels DNA-Screening für ΔF -508 und immunreaktivem Immunotrypsin wird diskutiert. Diese wird von immer mehr Arbeitsgruppen für sinnvoll gehalten, da Studien mittels bronchoalveolärer Lavage schon sehr frühzeitig eine ausgeprägte intrabronchiale Entzündung bei Säuglingen nachgewiesen haben, die durch frühzeitige Therapie beeinflußt werden konnte [34,101,145]. Desweiteren wurde in einer Studie in Wisconsin eine bessere Gewichtsentwicklung bei durch Screening erkannten Kindern im Vergleich zu ohne Screening diagnostizierten Kindern festgestellt [46]. Allerdings wurde unter angemessener Enzym-Substitution dieses Defizit rasch ausgeglichen. Die Kostenträger finanzieren ein Screening allerdings erst, wenn eine kausale Therapie möglich ist.

Ein grundsätzliches Problem in einem Screening nach Mutationen besteht darin, daß ein solches DNA-Screening zu einer sehr großen Anzahl von Trägern im Vergleich von identifizierten Patienten führen wird und eine eventuelle Trennung zwischen Trägern

und leicht erkrankten Patienten (eine gewöhnliche plus eine nicht identifizierte „leichte“ Zweitmutation) z.B. mittels Schweißtest meist unzureichend sein wird.

Der „**Schweißtest**“ wurde schon relativ früh (1959) als diagnostisches Mittel zur Erfassung der Mukoviszidose eingesetzt [50].

Ein weiteres Verfahren zur Diagnostik wurde mit der **Messung der nasalen transepithelialen Potentialdifferenz** 1981 von Knowles entwickelt, auf die an anderer Stelle noch ausführlicher eingegangen werden soll [74,78].

Die **Bestimmung der fäkalen Elastase-1** ergab in verschiedenen Untersuchungen eine ausgezeichnete Sensitivität und Spezifität für die Diagnose einer Pankreasbeteiligung bei cystischer Fibrose [26,54,124,148].

Schließlich besteht noch die Möglichkeit des **Gentests** [119], dessen Kosten sich für die vollständige Sequenzierung allerdings zur Zeit noch auf DM 4000,- belaufen.

1.7 Transepitheliale Potentialdifferenz

Auf diese Methode soll etwas näher eingegangen werden, da sich die vorliegende Doktorarbeit mit der nasalen transepithelialen Potentialdifferenz beschäftigt.

Ursprünglich wurde die transepitheliale Potentialdifferenz (PD) zwischen dem Flimmerepithel der Bronchien und der Submukosa gemessen, was untersuchungstechnisch sehr aufwendig war. Das Meßverfahren wurde vereinfacht, nachdem in Studien nachgewiesen werden konnte, daß der Aufbau des Epithels der unteren Nasenmuschel demjenigen der Bronchien entspricht [59] und die Submukosa des Luftgewebsepithels isoelektrisch mit der Subkutis ist [3,28,74].

So wird die PD heute üblicherweise zwischen dem Flimmerepithel der unteren Nasenmuschel und der leicht zugänglichen Subkutis z.B. am Oberarm bestimmt. Über diesen beiden Meßpunkten baut sich durch die weiter oben beschriebenen Ionentransportvorgänge (vgl. Kap. 1.4., s. Abb. 1) eine Spannungsdifferenz auf [88,89,90], die sich prinzipiell auch am Darmepithel ableiten läßt [97,119,142,143]. Diese Spannung ist ein Summationspotential und ist lumennegativ [74,78,89,141]. An dieser Stelle soll noch auf eine gewisse Besonderheit des Sprachgebrauchs im Umgang mit der PD hingewiesen werden: Spricht man von einer Erhöhung der PD-Werte, bedeutet dies eine Zunahme der Spannung. Das Vorzeichen der Spannung (positiv oder negativ) bleibt dabei unberücksichtigt. Entsprechend bedeutet eine Erniedrigung der PD-Werte eine Abnahme der Spannung.

Die PD beträgt bei einem gesunden Probanden gewöhnlich zwischen -10 mV bis -35 mV. Diese PD ist beim CF-Patienten aufgrund der erniedrigten Chloridsekretion und der erhöhten Na^+ -Resorption deutlich erhöht. Dadurch, daß die Natriumionen vermehrt in die Zelle aufgenommen werden, gehen positive Valenzen an der Oberfläche der Zellen verloren, und es kommt zu einer Erhöhung der Potentialdifferenz [80]. Die Potentialdifferenz bei CF-Patienten beträgt üblicherweise zwischen -45 mV bis -100 mV. Dieser Unterschied der Potentialdifferenz zwischen Gesunden und CF-Patienten ist diagnostisch nutzbar [14,15].

Die Potentialdifferenz läßt sich mit dem weiter unten erläuterten Versuchsaufbau gut messen, wobei die Möglichkeit besteht, mit verschiedenen Medikamenten die oben beschriebenen Kanäle pharmakologisch zu beeinflussen (vgl. Abb. 2).

Den **Natriumkanal** kann man beispielsweise mit Amilorid blockieren. Dies führt bei CF-Kranken zu einer Normalisierung der Potentialdifferenz bzw. bei Gesunden zu einer Erniedrigung der PD [21,51,52,58,64,75,76,85,99,144]. Die Natriumionen verbleiben außerhalb der Zelle, so daß es nicht zu einer verstärkten Wasserabsorption kommt.

Auf den **Chloridkanal** kann man in verschiedener Weise einwirken:

Eine Möglichkeit besteht darin, durch eine chloridarme Lösung die Chloridsekretion zu stimulieren, was jedoch meist nur bei Gesunden gelingt.

Die zweite Möglichkeit ist eine Aktivierung der Chloridkanäle durch β -2-Sympathomimetika (wie z.B. Terbutalin und Isoprenalin) über die Adenylatzyklase und die zyklischen Adenosinmonophosphatase [14,19,32,41,100]. Diese Aktivierung gelingt bei den meisten CF-Patienten nicht, da die Funktion dieser Kanäle gestört ist [17,48,77]. Allerdings gibt es Studien, bei denen an isolierten Epithelzellen, die depolarisiert wurden, eine Öffnung der Chloridkanäle über cAMP gelang [17,62,149].

Die Messung der PD ist inzwischen ein wichtiger Bestandteil der Mukoviszidosediagnostics, da sie gut reproduzierbar und wenig invasiv ist. Besonders hervorzuheben ist ihre Bedeutung bei Verdacht auf Mukoviszidosetypen, trotz negativen Schweißtestergebnisses [60,154]. Hier stellt die PD ein wichtiges ergänzendes diagnostisches Werkzeug dar [36].

1.8 Therapie

Eine kausale Therapie der Mukoviszidose ist bisher noch nicht bekannt. Auch Versuche einer Genterapie waren bisher erfolglos, so daß zum jetzigen Zeitpunkt nur eine symptomatische Therapie möglich ist.

Vorrangige Ziele dieser Therapie sind die Verbesserung der Sekretdrainage, eine aggressive antibiotische Therapie bei einer bakteriellen Besiedlung der Atemwege und die Substitution der Pankreasenzyme [29,92,102]. Therapieformen, die die Sekretdrainage fördern, sind körperliche Aktivitäten, Atemtherapie wie autogene Drainage, Übungen zur Thoraxmobilisation und Stärkung der Atemmuskulatur sowie die Inhalationstherapie [40]. Desweiteren gibt es eine Reihe medikamentöser Ansätze, die zur Zeit in klinischen Studien untersucht werden, deren Erläuterung jedoch den Rahmen dieser Doktorarbeit sprengen würde.

Auch weitere Organsysteme können durch die Mukoviszidose betroffen sein, die einer speziellen Therapie bedürfen.

1.9 Prognose

In Deutschland wurde die mittlere kumulative Überlebensrate für 1998 mit 29,6 Jahren beziffert. Das mittlere Alter der erfassten Patienten lag 1998 in der Bundesrepublik bei 15,8 Jahren, und 38 % der Patienten waren über 18 Jahre alt. Im Median verstarben die Patienten im Alter von 22 Jahren. Von 1995 bis 1998 verstarben aber auch 54 Patienten vor dem Erreichen des 18. Lebensjahres. Diese Daten sind mit denen aus den USA und Frankreich vergleichbar [127]. Bei Kindern, die 1990 geboren wurden, kann man von einer mittleren Lebenserwartung von 40 Jahren ausgehen [42]. Englische Krankenversicherungen kalkulieren die durchschnittliche Lebenserwartung heute geborener CF-Kinder auf 45-50 Jahre [40]. Das ist eine deutliche Verbesserung, bedenkt man, daß noch in den 60-er Jahren ein Großteil der Patienten bereits im Vorschulalter starb. Diese Verbesserung der Lebenserwartung wird größtenteils auf die aggressive antibiotische Therapie, die besseren Möglichkeiten der Enzymsubstitution in Verbindung mit einer fettreichen Ernährung sowie einer intensivierten Inhalations- und Physiotherapie, nicht zuletzt aber auch auf eine engmaschige ärztliche Betreuung zurückgeführt [40,91,131].

Die meisten Probleme bereitet weiterhin die chronisch destruierende Lungenerkrankung, die letztendlich die Prognose der Erkrankung bestimmt [27,106,127,153].

Ein weiteres Problem stellt die exokrine Pankreasinsuffizienz dar, wobei interessanterweise nur der Ernährungszustand, nicht jedoch die Pankreasfunktion an sich, Einfluß auf die Prognose hat [126]. Von den späteren Komplikationen, die im Einzelfall die Prognose erheblich beeinflussen können, sind Diabetes mellitus, biliäre Leberzirrhose, Pfortaderhochdruck, Ösophagusvarizen, Splenomegalie, chronisch rezidivierende Bronchopneumonien, Bronchiektasen, Atelektasen, Emphysem, Lungenabszesse, Pneumothorax, Hämoptysen und Cor pulmonale zu erwähnen [9,10,112,126].

1.10 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Ziele der vorliegenden Arbeit waren:

- Die Beurteilung des Stellenwertes der nasalen Potentialdifferenzmessung (PD) durch Vergleich mit mehreren anderen diagnostischen Verfahren.
- Die Untersuchung der Variabilität der PD unter physiologischen Bedingungen (körperliche Belastung) sowie unter einem zusätzlichen unspezifischen Stimulus (Kaltluftexposition).
- Der Nachweis der Wirksamkeit und Abschätzung der Wirkdauer der Amiloridinhala­tion per Pulverinhalator unter der Verwendung der PD als Testmethode.

2 Methodik

2.1 Material und Methodik der PD-Messung

Im Folgenden werden Aufbau und Vorgehen bei der transepithelialen Potentialdifferenzmessung erläutert.

2.1.1 Aufstellung des verwendeten Materials und der Geräte:

- Millivoltmeter der Wissenschaftlich-Technischen Werkstätten GmbH. WTW PH 530, Weilheim
- 2 Infusionspumpen, Typ Injektomat der Fa. Fresenius
- 50 ml Injektomat- Spritzen
- Injektomat-Leitungssysteme
- 3-Wege-Hähne
- Venenverweilkanüle, Typ Surflo, 24G
- Plastikschläuche auf brauner Kanüle
- 2 Agargelbrücken in Plastikschläuchen, gefüllt mit 0,9-molarer NaCl-Lösung in Hochagar der Firma Difco, Augsburg
- 2 Agargelbrücken in gebogenen Glasrohren, gefüllt mit 3-molarer KCl-Lösung in Hochagar der Firma Difco, Augsburg
- 100 ml-Flaschen isotonischer Kochsalzlösung
- 2 Erlenmeyerkolben (Weithals) 200 ml mit 3-molarer KCl- Lösung gefüllt, passende Kautschukstopfen mit Bohrungen
- Pflaster zur Fixierung der Verweilkanüle
- Kaltlichtquelle der Fa. Storz, Typ 559
- Glasfaserkabel der Fa. Storz
- konnektierbares Nasenspekulum mit Fiberglas-Lichtträger, 13,5 cm
- Nasenspekulum nach HALLE-TIECK für Kleinkinder 13 cm
- bakteriendichte Filter
- Augenuntersuchungsgestell
- Pulverinhalator der Fa. GTU
- Nasenadapter

- Computer
- Daisy-Lab Software zur Registrierung der Spannungskurve
- Drucker HP-Deskjet

2.1.2 Versuchsaufbau

Die Meßeinheit bestand aus einem hochohmigen Millivoltmeter (mV), das über einen seriellen Ausgang mit einer Database verbunden wurde. Diese machte die ausgegebenen Daten für die Datenbearbeitungssoftware Daisylab zugänglich, die eine Speicherung und somit spätere Auswertung der Daten ermöglichte. Das Voltmeter wurde mit zwei Silberchloridelektroden (AgCl) verkabelt, die in zwei mit 3-molarer Kaliumchlorid (KCl)-Lösung gefüllte Erlenmeyerkolben eingetaucht wurden. Die Kolben wurden mit Hilfe von verdunstungsdichten Kunststoffstopfen, die über entsprechend vorgebohrte Öffnungen verfügten, verschlossen. Die Agargelbrücken, welche ebenfalls mit 3-molarer KCl-Lösung aufgesättigt waren, verbanden diese Erlenmeyerkolben mit 100 ml-Flaschen, die isotone Natriumchlorid (NaCl)-Lösung enthielten. Von dort aus gingen weitere „Gelbrücken“ (Kunststoffschläuche mit NaCl-Kochagar gefüllt) zu zwei Dreiwegehähnen. Diese Dreiwegehähne stellten das Verbindungsstück zwischen Meßeinheit und Untersuchungseinheit dar. An die zuführenden Schenkel der Hähne wurde von 50 ml-Injektomatspritzen über zwischengeschaltete Schläuche isotonische Kochsalzlösung geleitet. Dies geschah auf Seiten der Meßelektrode mit einer Flußgeschwindigkeit von 5-7 ml/h, auf Seiten der Referenzelektrode hingegen mit 1-3 ml/h. Die abführenden Schenkel der Dreiwegehähne wurden auf Seiten der Meßelektrode über einen Schlauch mit einer Kanüle sowie mit einem extrem dünnen Plastikschauch verbunden. Die Referenzseite wurde mit einer kleinkalibrigen Venenverweilkanüle, die subkutan plaziert wurde, konnektiert.

Der gesamte Versuchsaufbau geht auf Boucher zurück [16] und ist in Abb. 3 schematisch und in Abb 4 photographisch dargestellt. Er wurde lediglich um die Datenverarbeitung mittels Computer und Datashuttle sowie Daisy-Lab-Software erweitert.

Abb. 3: Schematische Abbildung des Versuchsaufbaus (Erläuterungen im Text)

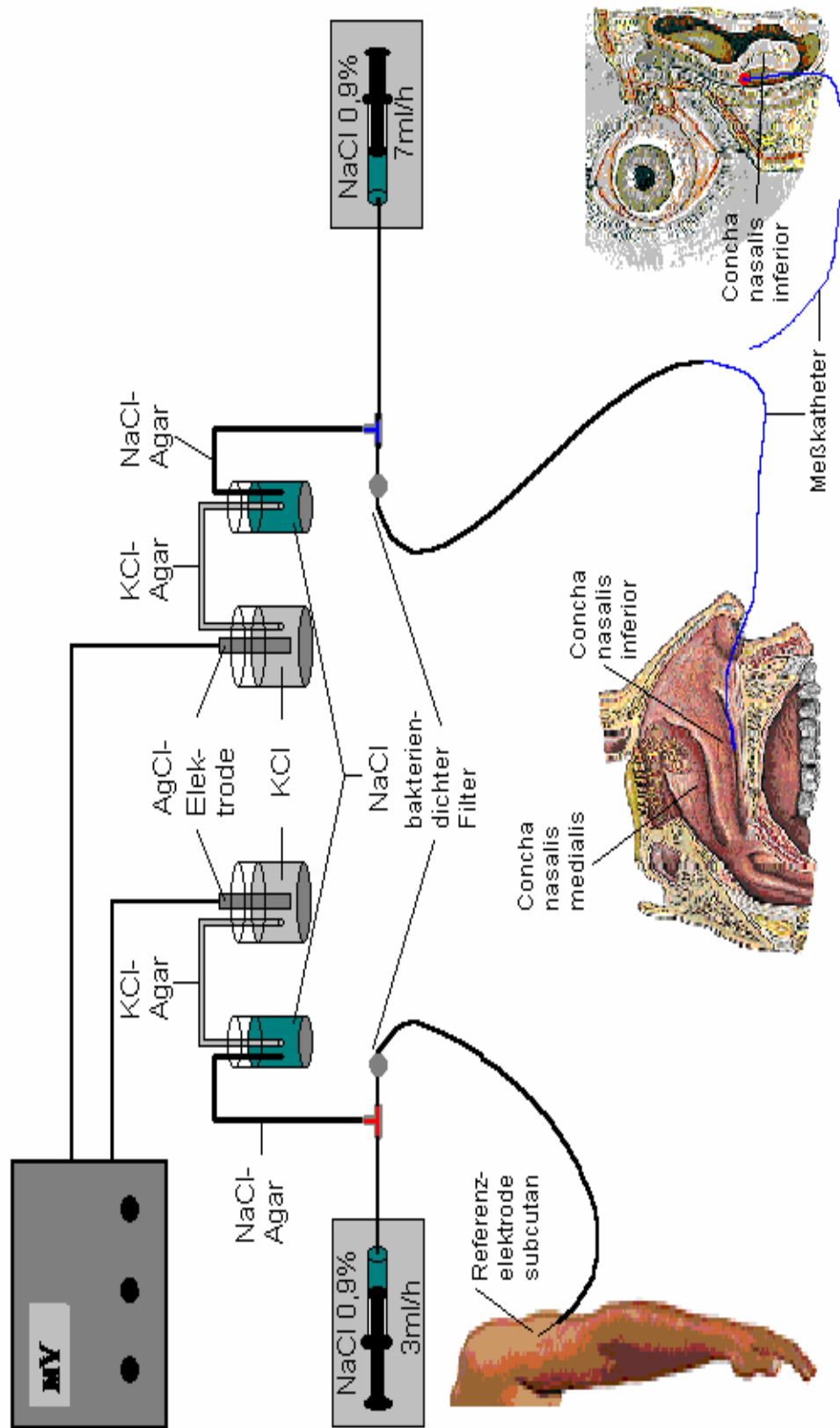


Abb. 4: Photographische Darstellung des Versuchsaufbaus



2.1.3 Herstellung der Agargelbrücken

Zur Herstellung der Gelbrücken wird zunächst herkömmlicher Kochagar im Mikrowellenherd erhitzt und dann zu jeweils gleichen Teilen mit 3-molarer KCl-Lösung bzw. physiologischer Kochsalzlösung vermischt. Diese Gemische werden in die U-förmigen Glasrohre bzw. die Plastikschläuche gefüllt. Während der Erkaltungsphase von 24h wurden die Schläuche in die jeweiligen Elektrolytlösungen gelegt, um sie völlig aufzusättigen.

Zur Funktionsüberprüfung werden die Agargelbrücken in die Erlenmeyerkolben getaucht und miteinander verbunden. Zeigt das Voltmeter bei diesem Kurzschluß 0 mV an, wird von korrekter Leitfähigkeit ausgegangen. Wird eine Spannung angezeigt, so ist anzunehmen, daß Risse bzw. Luftblasen in den Gelbrücken vorliegen, die zu einer Verminderung der Leitfähigkeit führen.

Die Herstellung der Gelbrücken geht auf eine Freiburger Arbeitsgruppe zurück [140].

2.1.4 Vorgehen bei der Messung

Als erstes wurde ein Nullabgleich vorgenommen, indem die Referenz- und die Meßelektrode kurzgeschlossen wurden. Dabei sollte keine Spannung auftreten. Kleine Spannungsschwankungen von ± 1 mV wurden akzeptiert und von der Funktionstüchtigkeit der Elektroden ausgegangen. Im Falle größerer Schwankungen wurde nach Luftblasen im System gesucht bzw. die Unversehrtheit der Gelbrücken überprüft. Im Anschluß daran wurde den Patienten der theoretische Hintergrund der Messung ihrem Alter entsprechend mit Hilfe von Bildern erklärt und auf die Freiwilligkeit der Teilnahme explizit hingewiesen.

Danach wurde die Subkutanelektrode vorbereitet und am linken Oberarm des Patienten eine kleine Hautstelle mit Hautdesinfektionsmittel besprüht. Die Einwirkzeit war beendet, wenn der Feuchtglanz der Haut verschwunden war (ca. 30 s). Daraufhin wurde eine kleinlumige Venenverweilkanüle 24 G subkutan plziert und nach dem Entfernen der Metallkanüle mit Pflastern fixiert. Sodann wurde die Kanüle mit isotoner Kochsalzlösung luftblasenfrei gefüllt und an die Referenzseite der Meßeinheit konnektiert. Über den Infusomaten wurde eine konstante Zufuhr von physiologischer Kochsalzlösung mit einer Flußgeschwindigkeit von 1-3 ml/ Stunde gewährleistet. Diese

subkutane Plazierung der Referenzelektrode an der Außenseite des Oberarmes geht auf Knowles zurück [78].

Der Schlauch an der Meßelektrode wurde ebenfalls mit isotoner Kochsalzlösung gefüllt und per Infusomat NaCl-Lösung mit einer Flußgeschwindigkeit von 3-6 ml/ Stunde nachinfundiert. Die unterschiedlichen Flußgeschwindigkeiten ergaben sich aus den unterschiedlichen Volumen des Schlauches und der Venenverweilkanüle [62,65].

Durch Anlegen der Meßelektrode auf eine feuchte Stelle des Unterarms wurde schließlich das gesamte System auf Luftblasenfreiheit überprüft, da nur dann eine Spannungsdifferenz abgelesen werden konnte. Nun konnte die eigentliche Messung beginnen:

Hierzu legte der Patient sein Kinn auf die an einem Tisch befestigte Kinnstütze, um eine möglichst ruhige Kopfhaltung zu erreichen. Die Kopfstellung war leicht rekliniert. Der Versuchsaufbau erlaubte dem Untersucher, den Kopf des Patienten ebenso im Blickfeld zu haben wie das Voltmeter. Mit dem an die Kaltlichtquelle angeschlossenen Nasenspekulum spreizte der Untersucher mit der linken Hand das Vestibulum nasi und verschaffte sich einen ersten anatomischen Überblick. Die Kaltlichtquelle war so eingestellt, daß die untere Nasenmuschel gut ausgeleuchtet wurde. Zur PD-Messung wurde die Meßelektrode unter die untere Nasenmuschel geschoben und unter ständigem Kontakt mit der Schleimhaut solange an deren Dach entlang geschoben, bis der Maximalwert der PD abzulesen war. Der Ort der maximalen PD befand sich meist ca. 3-4 cm von der Öffnung der Nase entfernt und war für den Untersucher nicht einsehbar (vgl. Abb. 5). Ziel der Messungen war es, den Maximalwert über mindestens 5 s konstant zu halten, um möglichst verlässliche Ergebnisse zu erhalten. Der theoretische Bereich der Meßwerte liegt bei dieser Methode zwischen -100 und 0 mV. Wichen die Ergebnisse eines Probanden in der vorliegenden Untersuchung davon ab, war davon auszugehen, daß sich entweder Luftblasen im System befanden oder die Meßelektrode den Kontakt zur Nasenschleimhaut verloren hatte. Diese Werte konnten dementsprechend auch nicht reproduziert werden, und die Messung wurde wiederholt. Es wurden jeweils zwei Messungen in jedem Nasenloch durchgeführt, wobei der Mittelwert aus den beiden Messungen registriert wurde. Ziel der zweiten Messung im jeweiligen Nasenloch war es, den Maximalwert der ersten Messung möglichst gut zu

reproduzieren. Gelang dies nicht, wurden weitere Messungen im jeweiligen Nasenloch vorgenommen, bis ein Meßergebnis reproduziert werden konnte.

Die Dokumentation einer PD-Messung bei einem CF-Patienten mittels Daisy Lab ist exemplarisch in Abb. 6 dargestellt.

Abb. 5: Anatomische Position der Meßelektrode am Dach der unteren Nasenmuschel

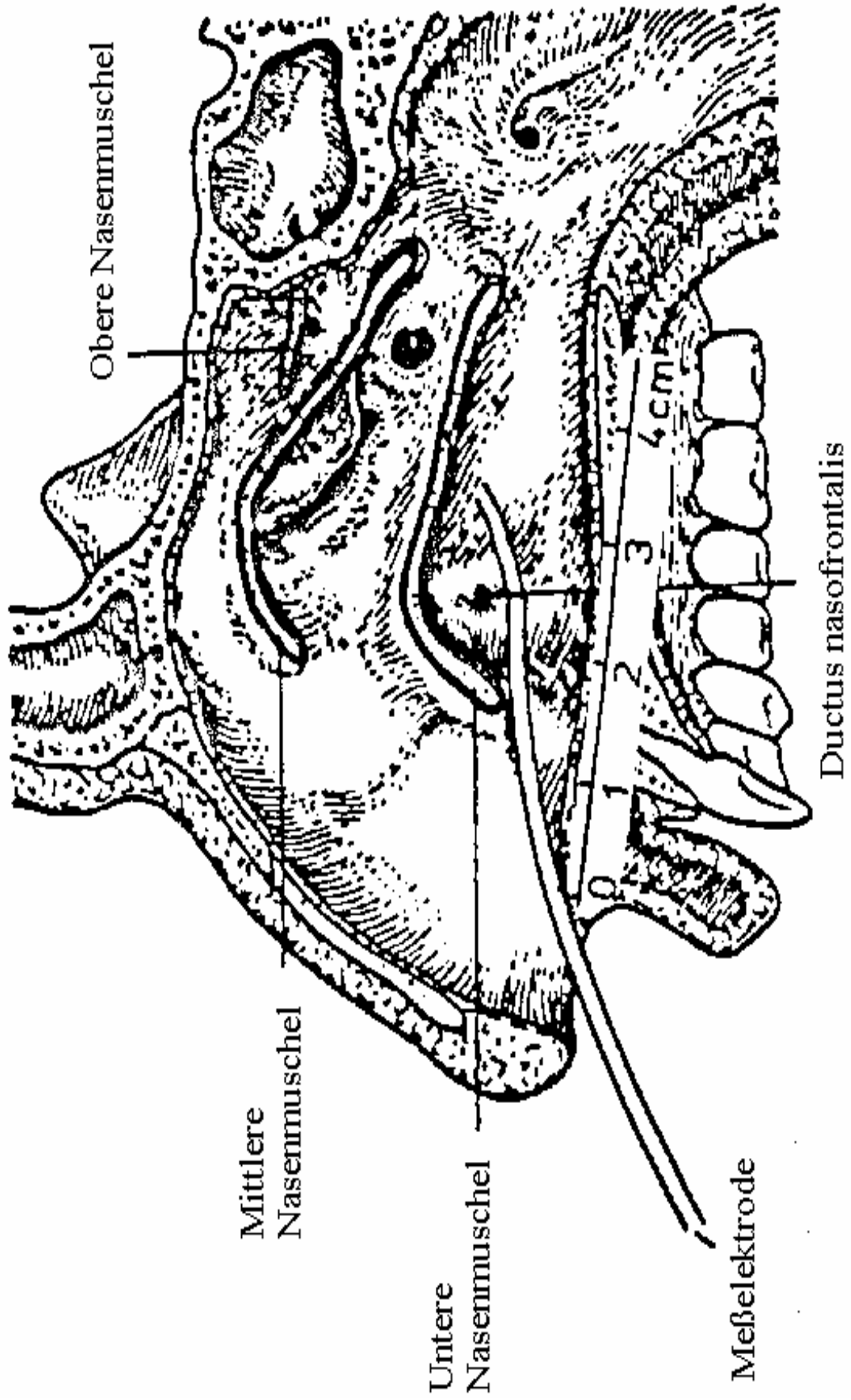
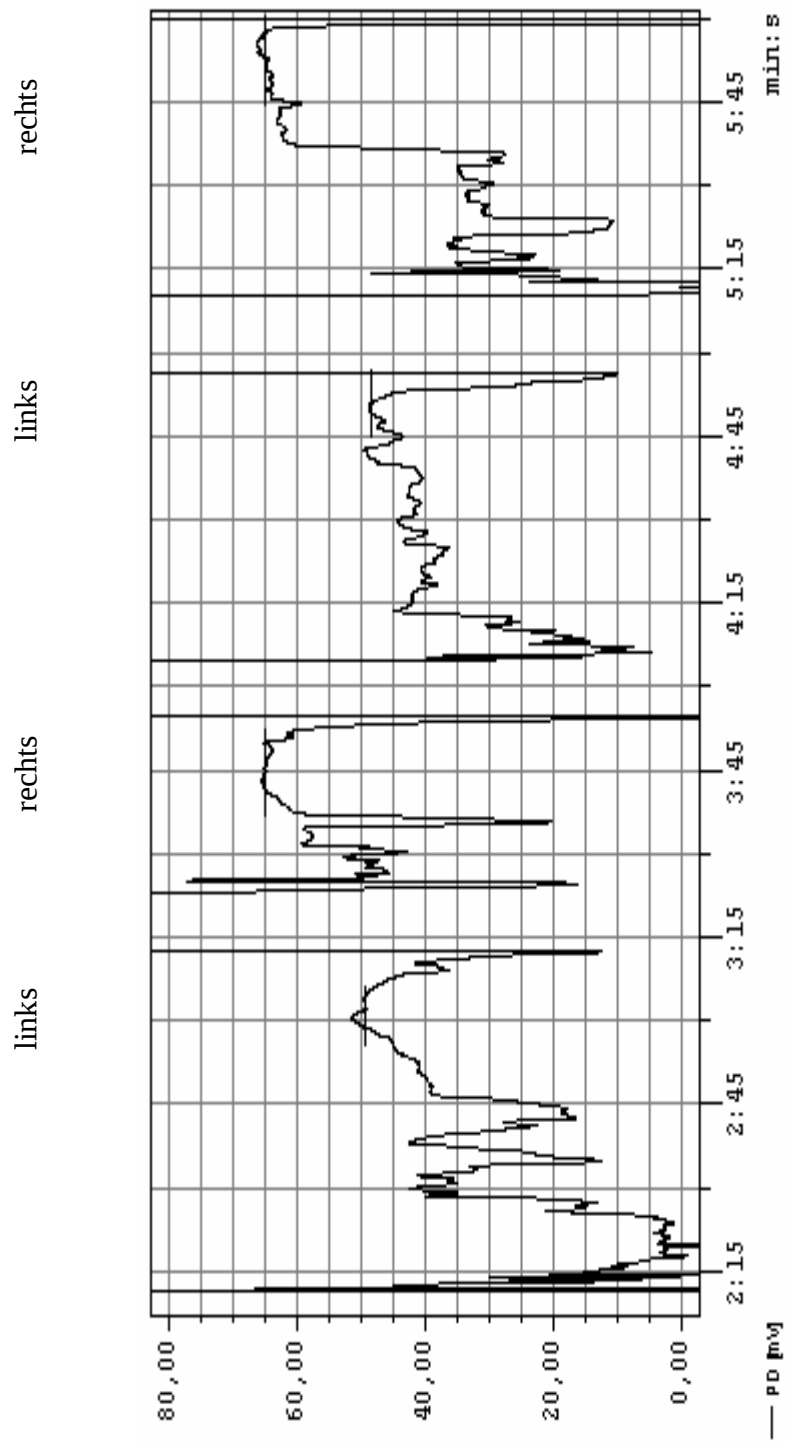


Abb. 6: Exemplarische Dokumentation einer PD-Messung bei einem CF-Patienten (S.H. 23 J.) (konventionelles Meßgerät, „Daisy Lab“).

Auswertung der Maximalwerte: links: 49 mV, 48 mV; rechts: 60 mV, 60 mV



2.2 Vergleich von verschiedenen Methoden zur CF-Diagnostik

In der CF-Diagnostik haben neben dem weiterhin entscheidenden klinischen Bild mehrere Meßparameter eine wichtige Bedeutung erlangt. Dies sind die Kochsalzkonzentration im Schweiß, die Elastase 1-Konzentration im Stuhl als Hinweis auf eine Pankreasinsuffizienz und die DNA-Diagnostik. Im folgenden sollen diese diagnostischen Verfahren mit der PD-Messung verglichen werden.

2.2.1 Iontophorese

Die initial am häufigsten eingesetzte Methode zur Mukoviszidose-Diagnostik ist die Iontophorese. Hierbei wird der Schweiß nach verschiedenen Methoden auf seinen Natrium- und/oder Chloridgehalt überprüft.

2.2.1.1 Methode

In der Kinderklinik der JLU-Gießen wird die Iontophorese mit einem Cystic Fibrosis Analyzer der Fa. Heinen und Löwenstein Medizintechnik vorgenommen. Dieser Test wird im Labor der Kinderklinik von Medizinisch-technischen Assistenten durchgeführt. Mit dem CF-Analyzer wird die Schweißsekretion mittels positiver Pilokarpin-Nitrat-Ionen auf einer kleinen Hautstelle induziert. Dazu wird eine Elektrode mit 0,5 prozentiger Pilokarpin-Nitrat-Lösung (positive Lösung) getränkt und auf einer haarlosen Stelle der Volarseite des Unterarms angebracht. Auf der gegenüberliegenden Seite wird eine Elektrode befestigt, die mit 1,0 prozentiger Natrium-Nitrat-Lösung (negative Lösung) getränkt ist. Beide Elektroden werden mit einem Gummiband auf der Haut fixiert und anschließend zur Durchführung der Iontophorese an den Cystic Fibrosis Analyzer angeschlossen. Dabei kann ein leicht stechendes Gefühl entstehen, das durch Reduzierung der Stromstärke vermindert werden kann. Nach 5 Minuten werden die Elektroden abgenommen, und es zeigt sich auf der Haut dort, wo sich die positive Lösung befand, ein ca. 2,5 cm großer roter Fleck. Diese Stelle wird nun gründlich mit destilliertem Wasser abgewaschen und trockengerieben. Sofort nach dem Trockenreiben wird ein kleines Schweißauffangschälchen auf die rote Zone gelegt und festgebunden, um ein Verdunsten des Schweißes zu verhindern. Die Innenseite darf aufgrund der Kontaminationsgefahr vom Untersucher nicht berührt werden. Nach einer Sammelzeit von ca. 15 Minuten wird das Schälchen abgenommen und dabei über die

Iontophoresezone geschabt, damit der Schweiß in das Schälchen gelangt und die durch Verdunstung entstandenen Salze sich wieder auflösen. Der Schweiß wird mit nicht heparinisierten Mikro-Hämatokrit-Röhrchen aus dem Schälchen herausgezogen und in ein Kapillarröhrchen umgeleitet, wobei darauf zu achten ist, daß keinerlei Luftblasen entstehen. Dieses Kapillarröhrchen wird in den Kapillarhalter des Cystic Fibrosis Analyzer gebracht, der den Natriumchloridgehalt des Schweißes in Milliäquivalent pro Liter (mEq/l) anzeigt. Die Elektrolyt-Konzentration des Schweißes wird beeinflusst durch das Alter des Probanden und den Umfang der Schweißabsonderung.

2.2.1.2 Grenzwerte

Eine eindeutig pathologische Iontophorese liegt nach Erfahrungen am Zentrum für Kinderheilkunde Gießen bei Werten über 100 mEq/l vor, der Grenzbereich liegt zwischen 80 und 100 mEq/l. Werte unter 80 mEq/l befinden sich also im Normalbereich. Die normale Elektrolytkonzentration (NaCl) eines 10-jährigen liegt beispielsweise durchschnittlich bei 33 mEq/l.

2.2.2 Elastase 1-Bestimmung

2.2.2.1 Methode

Um die Pankreasinsuffizienz festzustellen, wird an der Universitätsklinik Gießen vorzugsweise die fäkale pankreatische Elastase 1 bestimmt, deren Konzentration die exokrine Pankreasfunktion widerspiegelt. Elastase 1 ist absolut pankreasspezifisch und darmstabil. Sie korreliert hoch mit dem Goldstandard (dem invasiven Sekretin-Pankreozymin-Test) [95,125]. Die Substitutionstherapie hat keinen Einfluß auf das Testergebnis. Die Sensitivität und Spezifität für die Diagnose einer exokrinen Pankreasinsuffizienz liegt bei über 90 % [95,125]. Das Testprinzip basiert auf einer ELISA-Palette, die mit einem monoklonalen Antikörper beschichtet ist, der nur humane pankreatische Elastase erkennt. Elastase 1 wird durch Bindung an diese Antikörper immobilisiert. Anschließend erfolgt eine Inkubation mit einem zweiten monoklonalen Antikörper gegen die Elastase 1. Dieser Antikörper ist mit Biotin markiert und reagiert in der nächsten Inkubation mit dem Konjugat von Peroxidase und Streptavidin. Die Peroxidase ihrerseits ist in der Lage, das Substrat ABTS zu oxidieren. Oxidiertes ABTS wird anschließend photometrisch bestimmt.

Als Probenmaterial genügt eine erbsengroße, geformte Stuhlprobe oder Duodenalsaft. Der Stuhl wird extrahiert und verdünnt, Duodenalsaft lediglich verdünnt.

2.2.2.2 Grenzwerte

Die normale Referenzkonzentration im Stuhl für die pankreatische Elastase 1 beträgt 200 bis >500 µg E1/ g Stuhl. Eine mittlere bis leichte Insuffizienz liegt vor, wenn der Elastase 1-Wert zwischen 100-200 µg E1/g Stuhl liegt. Liegt der Wert unter 100 µg E1/g Stuhl, so liegt eine schwere Pankreasinsuffizienz vor (Grenzwerte entnommen aus dem Testkit von ScheBo Tech GmbH, Natanystr. 3, D-35394 Gießen).

Bei pathologischen Elastasekonzentrationen in ungeformten Stuhlproben sollte eine erneute geformte Stuhlprobe angefordert werden. Die Stuhlanalyse wird dann in Hinblick auf Fettgehalt mittels NIRA (Nahinfrarotspektroskopie) ergänzt.

2.2.3 DNA-Diagnostik

Die DNA-Diagnostik ist zwar die teuerste, aber – bei positivem Ergebnis - die aussagekräftigste diagnostische Maßnahme, da dann keine Zweifel an der Diagnose CF bestehen bleiben.

2.2.3.1 Methode

Seit 1997 wird in Gießen ein Kit für 31 verschiedene Mutationen angewendet (OLA-Kit, Fa. Applied Biosystems).

Dazu müssen zuerst Leukozyten präpariert werden. Diese werden aus Vollblut separiert und gereinigt. Die so gewonnen Leukozyten werden bei -20°C eingefroren. Zur DNA-Extraktion werden die Leukozyten aufgetaut und mit einem Proteinase K-Gemisch über Nacht bei 37°C inkubiert.

Nach Zugabe von Ethanol wird die Zellsuspension mit einem Photometer gemessen und aus dem Wert die DNA-Menge berechnet.

Danach wird eine bestimmte Menge der Zellsuspension mit Puffer und aqua dest. auf 97°C erhitzt und wieder auf 4°C abgekühlt. An den so gewonnen Proben wird nun nach weiteren Vorbereitungen die Sequenzierung durchgeführt.

2.2.3.2 Mutationstypen

Auflistung der 31 Mutationen, die erfasst werden:

Δ F508	Δ 1507
Q493X	V520F
1717-1G→A	G542X
G551D	R553X
R560T	S549S
S549N	3849+10kbC→T
3894-4A→G	R1162X
3659delC	W1282X
3905insT	N1303K
G85E	621+1G→T
R117H	Y122X
711+1G→T	1078delT
R347P	R347H
R334W	A455E
1898+1G→A	2183AA→G
2789+5G→A	

2.2.4 PD-Messung: Sensitivität und Spezifität

Um die Bedeutung der Potentialdifferenz als diagnostisches Verfahren einschätzen zu können, interessiert zunächst einmal die Sensitivität und die Spezifität der Messung.

Zur Bestimmung der Sensitivität wurden die jeweils ersten Meßergebnisse der Mukoviszidosepatienten in Gießen ausgewertet. Zur Bestimmung der Spezifität wurden die Messungen an gesunden Kontrollpersonen ausgewertet(s. Kap. 2.5.1)

2.3 Material und Methodik bei Fahrradergometrie und Kaltluftergometrie

2.3.1 Material

Zusätzlich zu dem schon oben beschriebenen Material für die Durchführung der Potentialdifferenzmessung wurden folgende Materialien benötigt:

- Computerradergometer ER 800 der Firma Erich Jaeger
- Respiratory Heat Exchange System der Firma Erich Jaeger
- Gummimaske
- Pulsoxymeter

2.3.2 Durchführung

Die Probanden wurden zunächst mit Hilfe des Fahrradergometers für eine Minute mit 1 Watt pro Kilogramm Körpergewicht belastet und danach für vier Minuten mit 2 Watt/kg belastet. Die Herzfrequenz und die O₂-Sättigung (SO₂) wurden pulsoximetrisch überwacht. Stieg der Puls auf über 180/min bzw. sank die SO₂ unter 92 % oder hatte der Proband deutliche Anzeichen von Atemnot, so wurde der Versuch sicherheitshalber abgebrochen. Vor und nach der Fahrradergometrie wurde jeweils die Potentialdifferenz registriert. Bei einer Änderung der PD von $\geq 7\%$ gingen wir von einem signifikanten Anstieg bzw. einem Abfall aus [63]. Bei der Fahrradergometrie mit Kaltluftexposition wurde den Probanden zusätzlich über eine Gesichtsmaske 5°C aus dem o.g. Kaltluftaggregat der Fa. Jaeger kalte Atemluft zugeführt.

2.4 Pilotstudie zur Wirksamkeit von Amiloridpulver

2.4.1 Material

Zusätzlich zu dem für die Messung der Potentialdifferenz benötigten Material wurde im Rahmen der Pilotstudie ein MAG-Haler (MAG= mechanical aerosol generator) mit einem Nasenadapter eingesetzt (Abb.7, 8). Der MAG-Haler wird von der Gesellschaft für Gesundheit und Umwelt produziert (GGU). Er enthält in einen Medikamentenblock gepreßtes Amilorid, von dem durch Rotation einer Stirnfräse Aerosol abgerieben wird. Die Größe der freigesetzten Partikel liegt größtenteils (95%) zwischen 0,63 und 5,4 µm. Die zur kompakten Ringform gepreßte Amiloridtablette ist in einem austauschbaren Mundstück auf einem gefederten Tablettenhalter befestigt. Der MAG-Haler kann durch Drücken eines Startknopfes vom Patienten bei Bedarf in Betrieb genommen werden. Ein wesentlicher Vorteil der MAG-Haler-Inhalation besteht in der relativ geringen Atemflußabhängigkeit. Dieses Prinzip der Trockeninhalation wurde bereits von mehreren Gruppen untersucht [31,86,160].

Amilorid (chemisch N-amidino-3,5-diamino-6-chlorpyrazin-2-carboxamid) ist ein Natriumkanalblocker, der an der apikalen Membran den bei CF-Patienten erhöhten Natriumeinstrom blockiert. Die Blockade der Natriumkanäle erfolgt kompetitiv und ist relativ schnell reversibel [73]. Der genaue Blockademechanismus und die exakte Bindungsstelle für das Amilorid sind noch ungeklärt. Amilorid ist zugelassen als kaliumsparendes Diuretikum, welches allerdings aufgrund der schwachen Wirkung nur als Kombinationspräparat eingesetzt wird [66,73]. In Gießen und von einigen anderen Arbeitsgruppen wird Amilorid bei CF-Patienten zur Inhalationstherapie eingesetzt. Die Patienten berichten über eine Erleichterung der Sekretexpektion. Diese subjektiven Erfahrungen wurden durch Hofmann objektiviert, der eine erhöhte Menge abgehusteten Sekrets feststellen konnte [62]. Es kommt durch Amilorid zu einer Abnahme der Viskosität des Sekrets, die mukoziliäre Clearance wird verbessert [7,16,76,85,92,99]. Außerdem wird Amilorid eine antimikrobielle Wirkung zugeschrieben [20]. Ein wesentlicher Vorteil der MAG-Haler-Inhalation besteht in der relativ geringen Atemflußabhängigkeit. Dieses Prinzip der Trockeninhalation wurde bereits von mehreren Gruppen untersucht [31,86,160].

Abb. 7: MAG-Haler mit Ringtablette (siehe Pfeil)

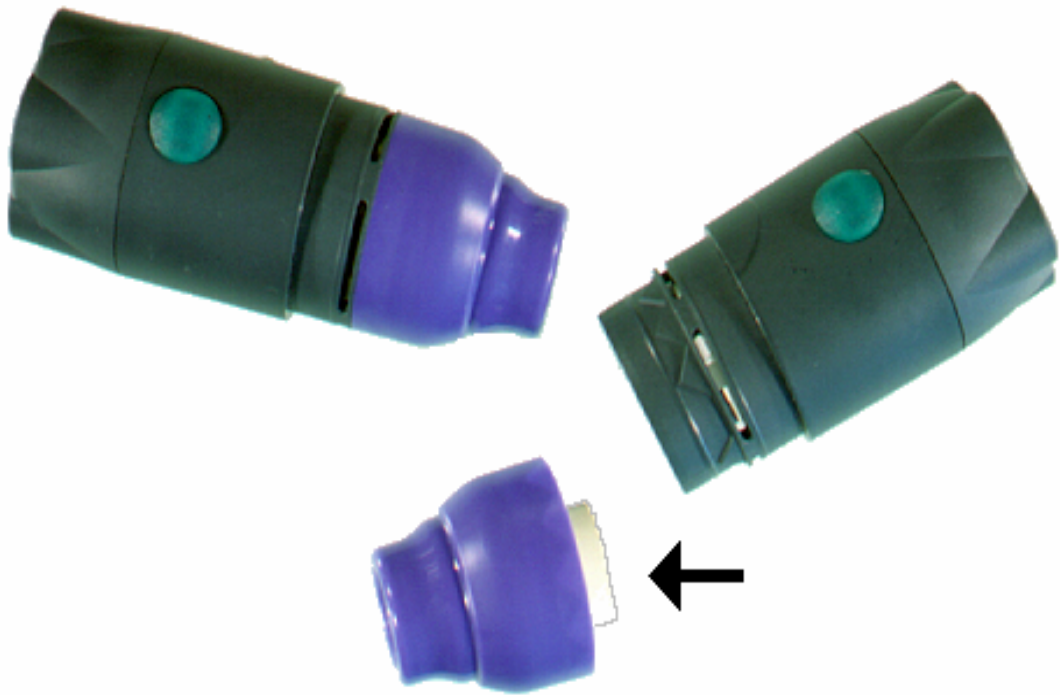
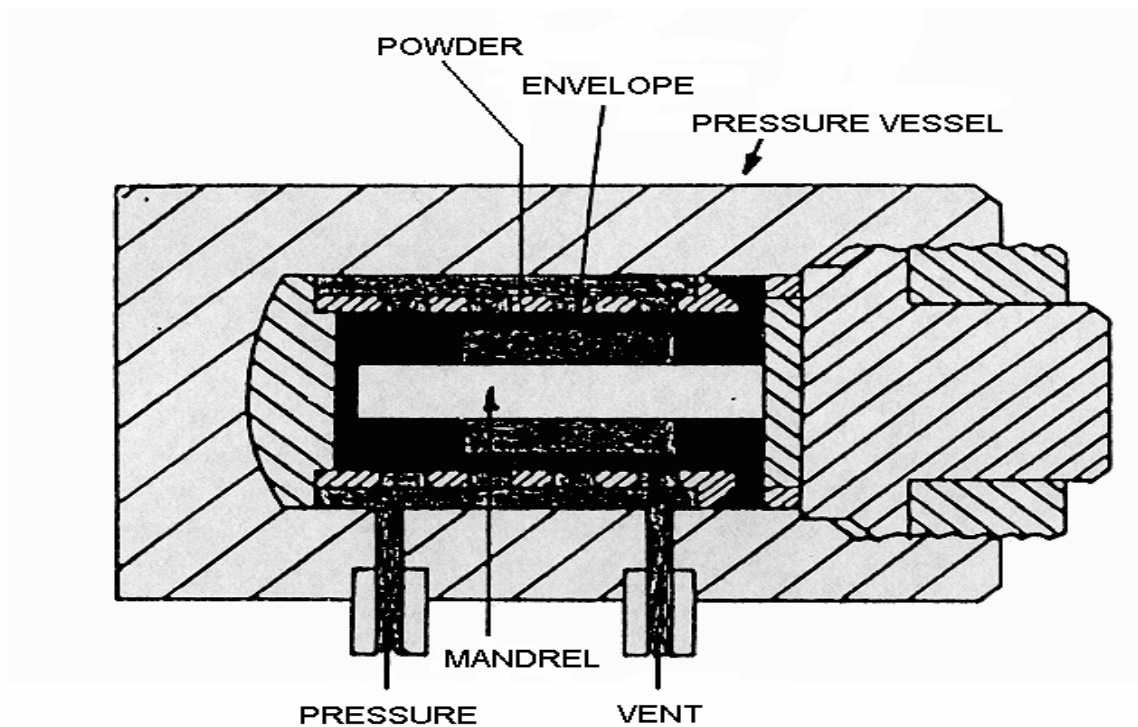


Abb. 8: Schematische Darstellung des Pulverinhalators



2.4.2 Durchführung

Im Anschluß an die nasale Applikation von 3 bzw. 6 Hub Amiloridpulver wurde in halbstündlichen Abständen nasale Potentialdifferenzmessungen durchgeführt, um die Wirkungsdauer zu ermitteln. Die Patienten durften in dieser Zeit nicht die Nase putzen, um eine Amiloridelimination auf diese Weise zu verhindern. Die Messung wurde beendet, wenn der Ausgangswert $\pm 10\%$ erreicht wurde. Die Messungen wurden in ein Zeitdiagramm eingetragen.

2.5 Untersuchungskollektiv

Das Patientenkollektiv rekrutierte sich aus der Mukoviszidose-Ambulanz der Kinderklinik der Justus-Liebig-Universität Gießen, aus der Erwachsenenambulanz der Lungenklinik Seltersberg der JLU Gießen sowie vereinzelt auch aus stationären CF-Patienten beider Abteilungen. Es wurde keine Selektion der Patienten vorgenommen. Nur die jeweilige initiale Potentialdifferenzmessung der Patienten wurde in die Statistik einbezogen, um eine Vergleichbarkeit der Daten zu gewährleisten. Dies bedeutet, daß die PD-Messung teilweise vor der Diagnosestellung stattgefunden hat.

Das Vergleichskollektiv rekrutierte sich aus Patienten der pneumologischen Ambulanz (vorwiegend Asthmatiker) und aus Studenten der Universität Gießen. Bei den Gesunden wurde darauf geachtet, daß keine Rhinitis oder eine Polyposis nasi vorlag.

Alle PD-Messungen erfolgten mit Genehmigung der Ethikkommission nach Zustimmung der Probanden beziehungsweise der Eltern der Probanden. Die Messungen wurden bei Patienten im Alter < 18 Jahren in Anwesenheit der Eltern durchgeführt.

2.5.1 Sensitivitäts- und Spezifitätsbestimmung

Es wurden 136 CF-Patienten im Alter von 1 Woche bis 54 Jahren (Durchschnittsalter: 16,2 Jahre) untersucht. Davon waren 68 weiblich und 68 männlich. Es wurden jeweils die Ergebnisse der ersten Messungen verwendet. Im Vergleich dazu wurden 352 gesunde Kontrollpersonen im Alter von 1 Monat bis 87 Jahren (Durchschnittsalter: 13,0 Jahre) untersucht. Davon waren 154 weiblich und 198 männlich. Auch hier wurden nur die jeweils ersten Messungen verwendet.

Tab. 1: Patientenkollektive der verschiedenen Untersuchungen

Versuch	n	Altersrange	Ø-Alter	Männl.	Weibl.
Sens.	136	1 Wo.- 54 J.	16,2	68	68
Spez.	352	1 Mo.- 87 J.	13,0	198	154
Schweiß	103	1 Wo.- 54 J.	16,0	51	52
Pankinsuff.	82	1 Wo.- 54 J.	15,8	41	41
Gentest	102	1 Wo.- 54 J.	16,3	54	48
Ergo/CF	41	8 J.- 38 J.	18,4	22	19
Ergo/ges.	66	7 J.- 42 J.	23,2	38	28
Kalt/CF	18	13 J.- 29 J.	18,8	10	8
Kalt/ges.	20	7 J.- 29 J.	20,8	16	4
Amilorid	76	8 J. – 31 J.	20,8	36	40

2.5.2 Vergleich Potentialdifferenzmessung – Iontophorese

Dieses Untersuchungskollektiv ist eine Untergruppe des Kollektives der Sensitivitäts- und Spezifitätsbestimmung. Es wurden alle Patienten berücksichtigt, bei denen ein Schweißtestergebnis bekannt war. Dies war bei 103 Patienten im Alter von 1 Woche bis 54 Jahren der Fall (Durchschnittsalter: 16,0 Jahre), davon 52 weibliche und 51 männliche Personen.

2.5.3 Vergleich Potentialdifferenzmessung – Elastase 1-Bestimmung

Auch die CF-Patienten aus dieser Untersuchung rekrutierten sich aus dem ersten Untersuchungskollektiv. Es handelte sich in diesem Fall um 82 Patienten mit derselben Altersspanne (Durchschnittsalter: 15,8 Jahre). Darunter waren 41 männliche und 41 weibliche Patienten.

2.5.4 Vergleich Potentialdifferenzmessung – Gentest

Das letzte vergleichende Untersuchungskollektiv setzte sich ebenfalls aus einer Untergruppe des ersten Kollektivs zusammen. Hier lag bei 102 Patienten ein Gentest vor. Davon waren 48 weiblich und 54 männlich. Das Durchschnittsalter betrug 16,3 Jahre, die Altersspannweite blieb gleich.

2.5.5 Fahrradergometrische Untersuchungen

Um eventuelle Veränderungen der PD durch die Fahrradergometrie festzustellen, wurden 41 Messungen an CF-Patienten vorgenommen. Das Alter der Versuchspersonen variierte zwischen 8 und 38 Jahren mit einem Durchschnittsalter von 18,4 Jahren. Davon wurden 19 Messungen an weiblichen CF-Patienten vorgenommen und 22 Messungen an männlichen. Es wurde darauf geachtet, daß die Patienten körperlich in der Lage waren, die Belastungen durchzustehen. Falls sich größere Atembeschwerden während des Versuches zeigten, wurde der Versuch abgebrochen. An Kontrollpersonen wurden 66 Messungen vorgenommen, davon 28 Messungen an weiblichen und 38 Messungen an männlichen Personen. Diese freiwilligen Kontrollpersonen waren zwischen 7 und 42 Jahren alt mit einem Durchschnittsalter von 23,2 Jahren.

2.5.6 Kaltluftexposition und Fahrradergometrie

Die Fahrradergometrie mit Kaltluftexposition ist relativ belastend für die Probanden. Dementsprechend wurden bei dieser Studie nur 18 Messungen an CF-Patienten vorgenommen. Das Alter der Probanden lag zwischen 13 und 29 Jahren mit einem Durchschnittsalter von 18,8 Jahren. Es wurden acht Messungen an weiblichen und zehn Messungen an männlichen CF-Patienten vorgenommen. In der Kontrollgruppe wurden 20 Messungen durchgeführt. Das Durchschnittsalter der Kontrollgruppe lag bei 20,8 Jahren mit einer Spannweite von 7 bis 29 Jahren. In der Kontrollgruppe wurden 4 Messungen an weiblichen und 16 Messungen an männlichen Personen vorgenommen.

2.5.7 Amilorid in Pulverform

Zur Prüfung der klinischen Wirksamkeit wurde 42 CF-Patienten 1, 2, 3 oder 6 Hub Pulveramilorid verabreicht. Die Zuteilung zu den einzelnen Gruppen erfolgte nach dem Zufallsprinzip. Die Potentialdifferenz wurde vor und nach Verabreichung des Amilorids registriert.

Daraus ergab sich folgendes Verteilungsmuster:

Tab. 2: Gruppeneinteilung der Patienten im Rahmen der Pulveramiloriduntersuchung

	n	Altersrange	Durchschnittsalter
Gruppe 1 (1 Hub):	22 Messungen	9-33 Jahre	21,4 Jahre
Gruppe 2 (2 Hub):	20 Messungen	9-38 Jahre	20,8 Jahre
Gruppe 3 (3 Hub):	22 Messungen	8-38 Jahre	22,6 Jahre
Gruppe 4 (6 Hub):	12 Messungen	9-26 Jahre	16,3 Jahre

2.6 Statistische Methoden

Es wurden die üblichen Methoden der deskriptiven und Inferenzstatistik angewendet.

Bedeutung der Symbole bzw. Abkürzungen:

- n: Stichprobenumfang, d.h. die Anzahl der Messungen bzw. die Anzahl der Probanden, die getestet wurden.
- x: Mittelwert einer Stichprobe
- s: Standardabweichung
- DAM: durchschnittliche Abweichung vom Mittel
- Med.: Median
- Min: Minimalwert
- Max: Maximalwert
- Range: Maximal- und Minimalwert
- p: Irrtumswahrscheinlichkeit für den Fehler erster Art

Folgende Formeln wurden zur Berechnung der Sensitivität bzw. der Spezifität benutzt:

Sensitivität: Richtig erkannte Kranke / Gesamtzahl der Kranken (in Prozent)

Spezifität: Richtig erkannte Gesunde / Gesamtzahl der Gesunden (in Prozent)

Die statistischen Wahrscheinlichkeiten wurden mit dem t-Test für abhängige bzw. unabhängige Stichproben und mit dem Wilcoxon Rangsummentest ermittelt.

Zur grafischen Darstellung und Auswertung der Daten wurden die Statistikprogramme Microsoft Excel 97 und SPSS für Windows Ver. 6.1.3 von SPSS Inc. genutzt.

3 Ergebnisse

3.1 Vergleich zwischen Potentialdifferenzmessung und verschiedenen diagnostischen Methoden

Ziel der Untersuchungen war es, die Wertigkeit der Potentialdifferenzmessung einzuschätzen. Aus diesem Grund wurde die PD-Messung mit anderen gebräuchlichen Methoden im Hinblick auf ihre Aussagekraft verglichen.

3.1.1 Sollwertbereich Gesunder, Meßwertbereich von CF-Patienten

Aus den im Rahmen der vorliegenden Arbeit an 352 Gesunden und 136 CF-Patienten erhobenen Meßwerten leitet sich der in der Tabelle angegebene Sollwertbereich für Gesunde und der Meßwertbereich für CF-Patienten ab (vgl. Abb. 9 a,b).

Tab. 3: Meßwerte der Potentialdifferenz bei Gesunden und CF-Patienten.

	X (mV)	s	DAM	Min (mV)	Max (mV)
Gesunde	-29,1	9,8	8,1	-8	-57
CF-Pat.	-55,9	15,5	12	-9	-103

Anhand des Histogramms mit eingezeichneter Normalverteilung in Abbildung 9b läßt sich erkennen, daß die Werte normalverteilt sind. Ein Wert der Potentialdifferenzmessung von größer als -45 mV (Mittelwert + 2 DAM) wurde aufgrund von Erfahrungen am Zentrum für Kinderheilkunde JLU Gießen als pathologisch eingestuft, während ein Ergebnis von -35 mV bis -45 mV als grenzwertiger Befund eingestuft wurde. Lag das Ergebnis unter -35 mV, gingen die Untersucher von einem negativen Testergebnis aus.

Zwar fällt die nasale Potentialdifferenz der CF-Patienten im Mittel um $27,9$ mV größer aus als bei Gesunden. Allerdings ist der Überlappungsbereich erheblich, da die Spannweite der Gesunden von -8 bis -57 mV, diejenige der CF-Patienten von -9 bis -103 mV reicht. Für die nachfolgenden Berechnungen wurde der für Gesunde berechnete Grenzwert $x + 2$ DAM zugrundegelegt : -45 mV.

Abb. 9 a: Histogramm der Potentialdifferenzerstmessungen bei Gesunden

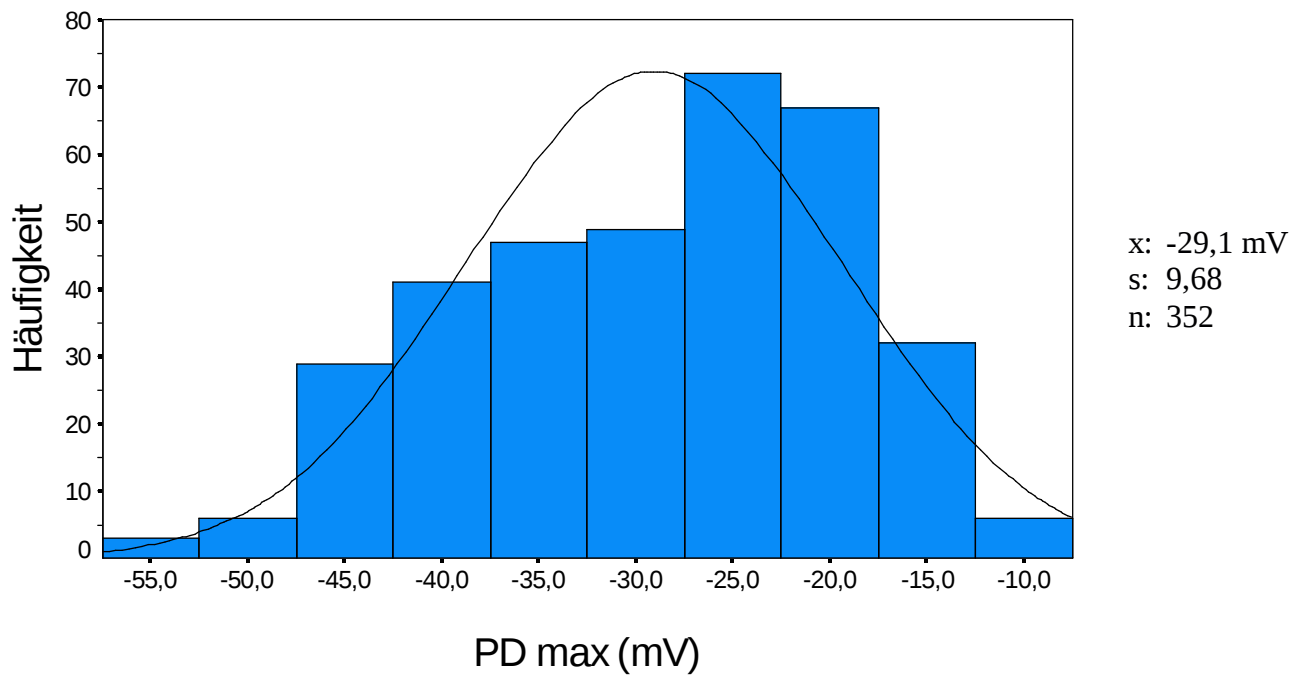
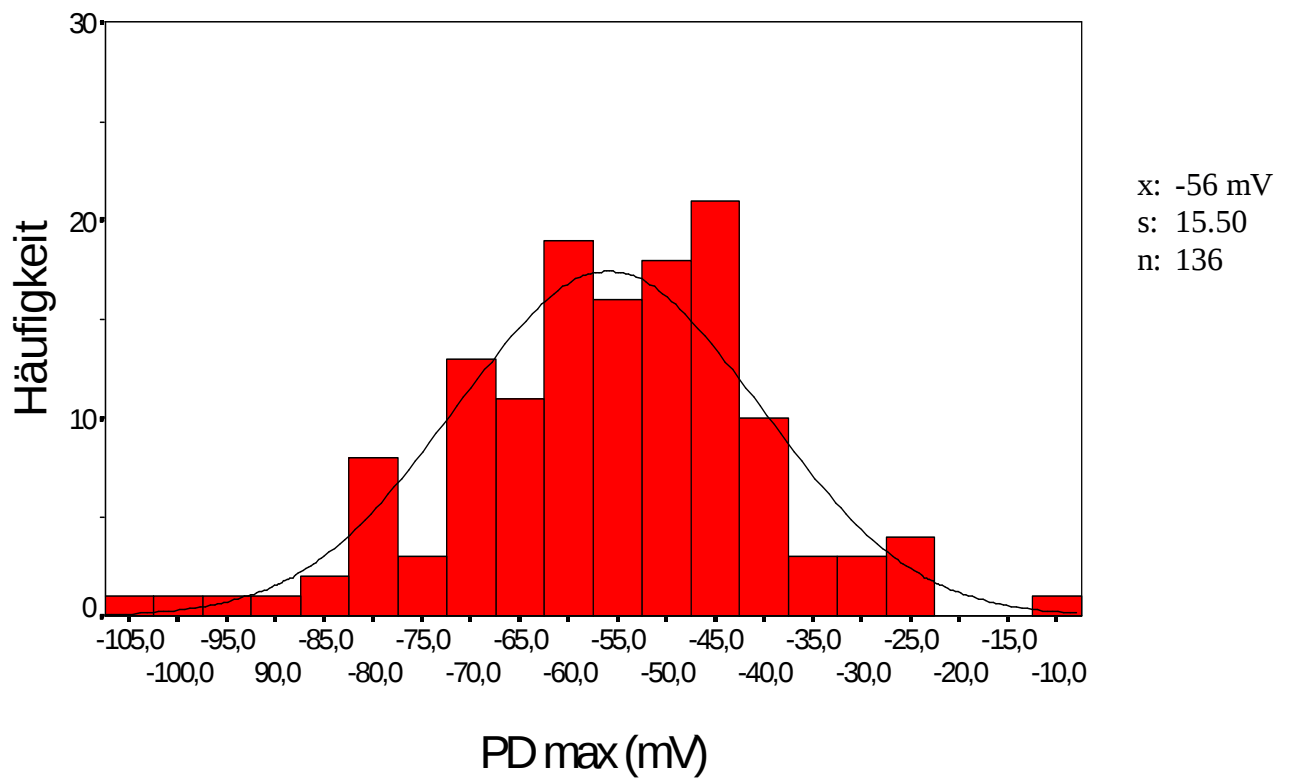


Abb. 9 b: Histogramm der Potentialdifferenzerstmessungen bei CF-Patienten



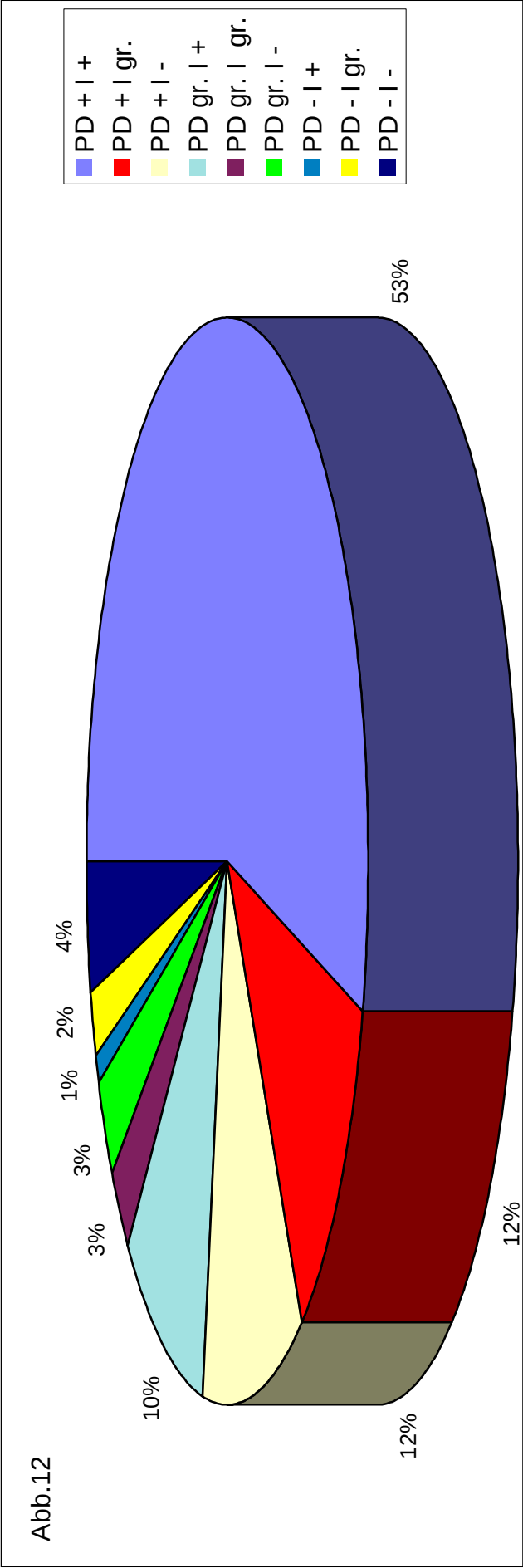
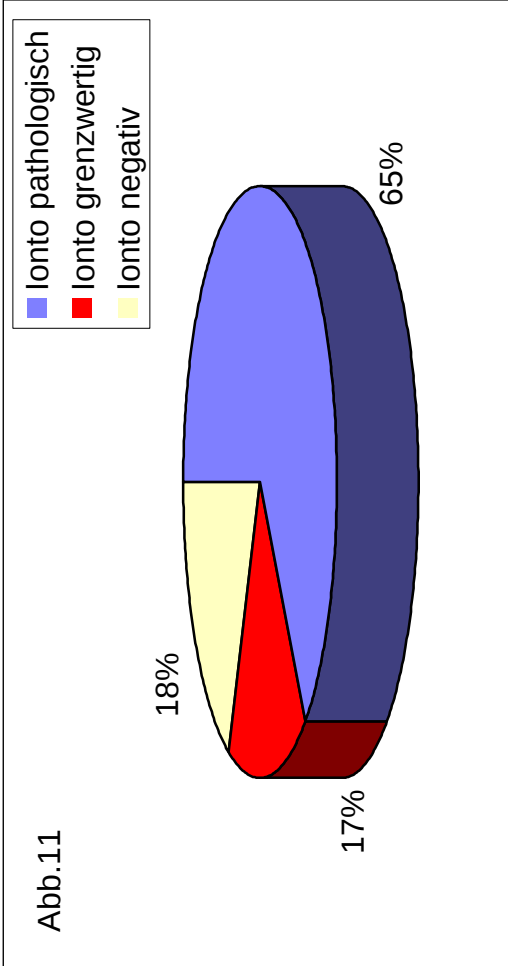
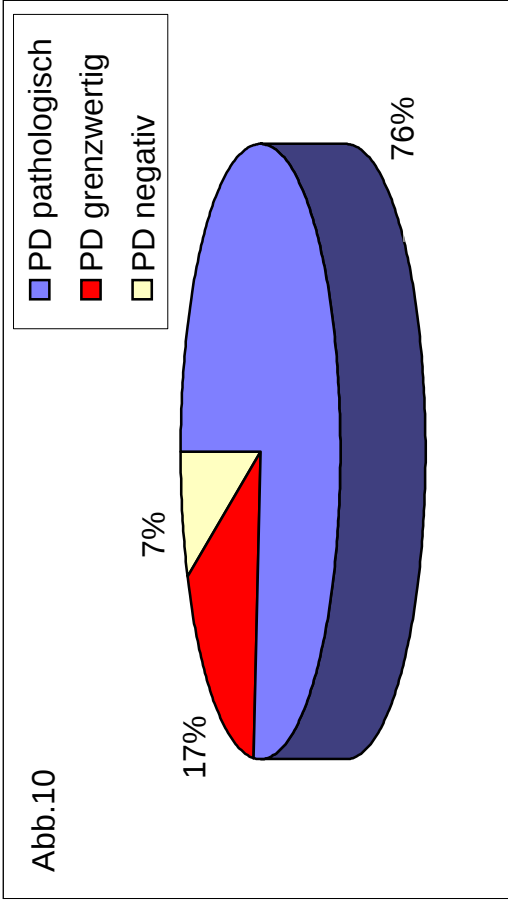
3.1.2 Iontophorese und Potentialdifferenzmessung unter Ruhebedingungen

Bei der Potentialdifferenzmessung ergab sich ein Mittelwert bei CF-Patienten von -55,9 mV mit einer Standardabweichung von 15,2. Die Spannweite betrug -9 mV bis -103 mV. Die Beurteilungskriterien für die Schweißanalyse sind Abschnitt 2.2.1.2 zu entnehmen.

Die Potentialdifferenzmessung lieferte nach den o.g. Kriterien in 76 % pathologische Ergebnisse (siehe Abb. 10), wohingegen die Iontophorese nur in 65 % mit pathologischen Werten einherging (Abb. 11). Die grenzwertigen Befunde entsprechen sich bei beiden Verfahren mit jeweils 17 %. Die negativen Befunde unterscheiden sich wieder um 11 % (7 % bei der Potentialdifferenzmessung im Vergleich zu 18 % bei der Iontophoreseuntersuchung).

Berücksichtigt man in der Beurteilung beide Meßverfahren, so erkennt man, daß bei 4% der Patienten sowohl die Potentialdifferenzmessung als auch die Iontophorese zu einem negativen Ergebnis kam, das bedeutet eine Verbesserung der Diagnosestellung von 78% auf 96%, also um 18%. Die Prozentzahl der Patienten, bei denen nicht mindestens ein Parameter eindeutig pathologisch war, beträgt 12 %, was einer Verbesserung von 65% auf 88 % , also um 23 % bedeutet (vgl. Abb. 11).

Abb. 10,11,12 : Ergebnisse PD-Messung, Ergebnisse Iontophorese, Vergleich PD-Messung/ Iontophorese (n = 103)



+ = positiv , gr. = grenzwertig, - = negativ

3.1.3 Potentialdifferenzmessungen und Elastasebestimmungen im Stuhl

Nach den in Abschnitt 2.2.2.2 angegebenen Kriterien erbrachte die Elastasebestimmung bei 70% der Patienten einen pathologischen Befund, bei 8 % ein grenzwertiges Ergebnis; bei 22 % der Patienten lag keine Pankreasinsuffizienz vor (Abb.13). Die zusätzliche Berücksichtigung der PD-Messung verbessert die Diagnosestellung von 78% auf 97%, also um 19%. Bei 3 % der Patienten war das Resultat der Potentialdifferenzmessung negativ und eine Pankreasinsuffizienz nicht nachweisbar. Bei Kombination beider Methoden ist nur noch bei 11 % der Patienten nicht mindestens ein Parameter eindeutig pathologisch (Verbesserung von 70% auf 89%). (vgl. Abb. 14)

Abb. 13,14: Ergebnisse Elastase1- Bestimmung, Vergleich Elastase 1/ PD-Messung

Abb. 13

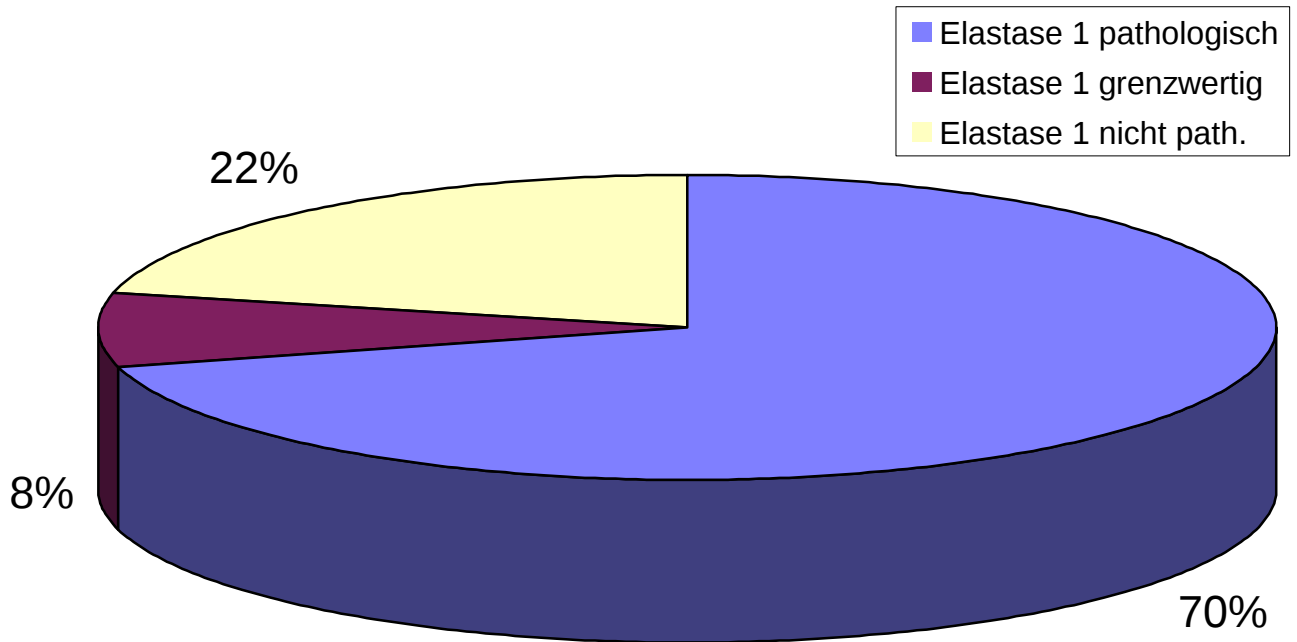
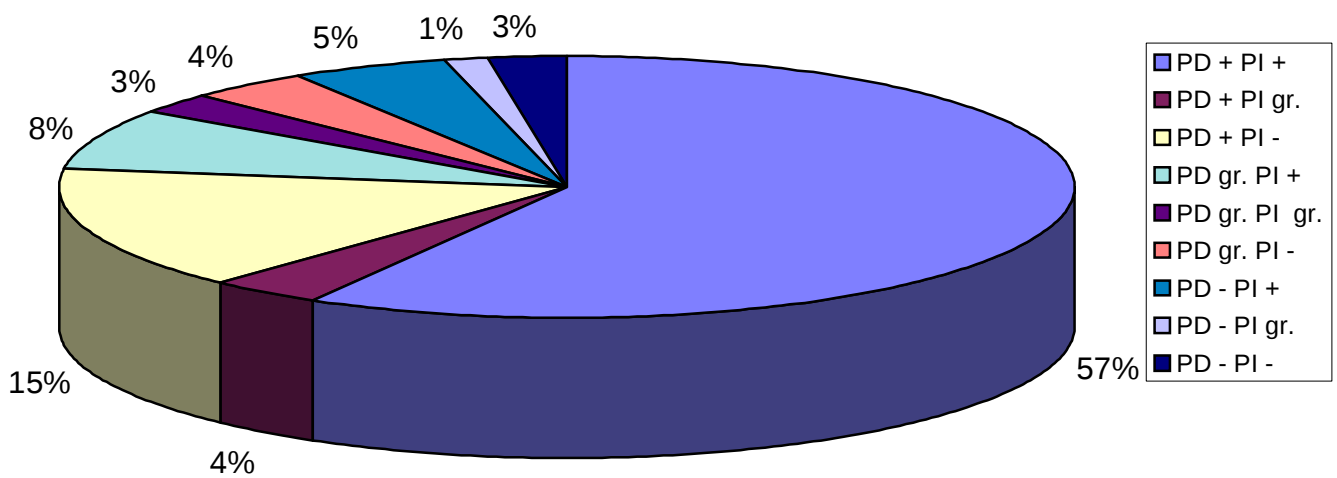


Abb. 14



3.1.4 Potentialdifferenzmessung und DNA-Analysen

Bei den Genuntersuchungen wurde der Gentest als positiv bewertet, wenn zwei CFTR-Mutationen vorlagen. Wurde nur eine Mutation identifiziert, wurde von einem Heterozygotenstatus gesprochen. Um einen Vergleich mit den anderen Parametern zu ermöglichen, wurde dieser Befund als grenzwertig bezeichnet. Wurde kein Gen gefunden, galt der Test als negativ.

Auf der Basis der verschiedenen Test-Kits wurden bei 58 % der Patienten beide Mutationen identifiziert und bei 24 % der Patienten 1 Allel identifiziert (vgl. Abb.15). In der Kombination mit der Potentialdifferenz verbessert sich die Diagnostikrate von 72 % auf 98 %, also um 26%. Nur bei 2 % der Patienten waren beide Untersuchungen negativ. Bei 11 % der Patienten war mindestens ein Test nicht pathologisch, was einer Verbesserung von 58 % auf 89 % entspricht (vgl. Abb. 16).

Abb. 15: Gendiagnostik bei CF-Patienten

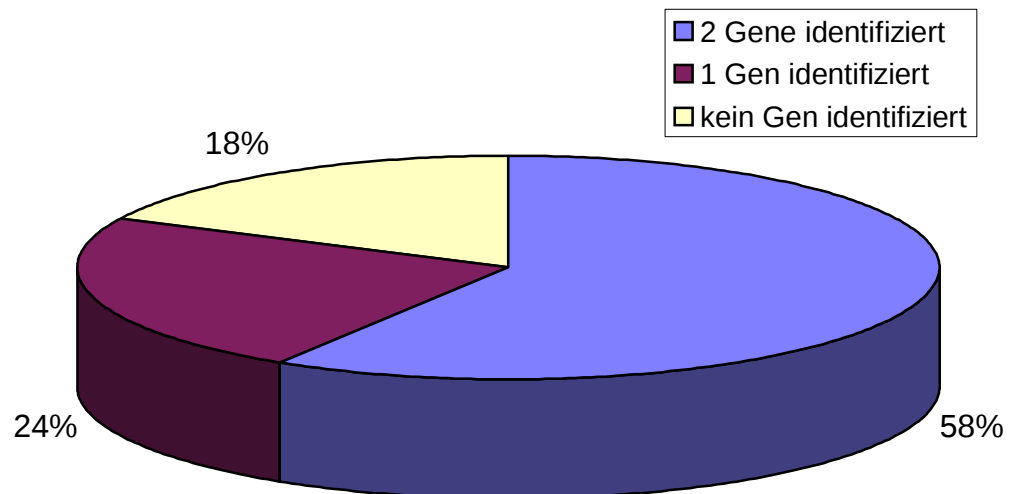
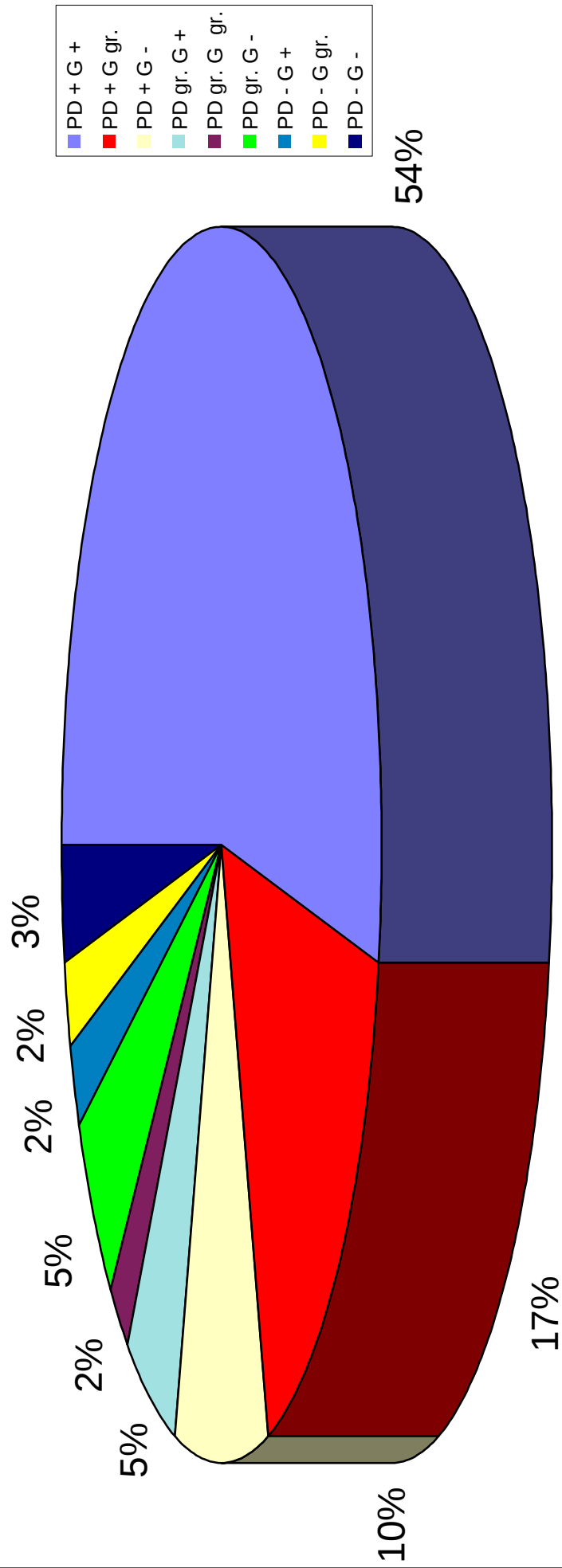


Abb. 16: Vergleich PD-Messung/ Gentest



3.2 Sensitivität und Spezifität der Potentialdifferenzmessung

Die Sensitivität und Spezifität eines diagnostischen Verfahrens hängen von der Festsetzung eines Grenzwertes ab. Je höher dieser Grenzwert bei der Potentialdifferenz (PD) angesetzt wird, um so spezifischer wird der Test. Gleichzeitig verliert der Test an Sensitivität.

Dementsprechend wurden die Spezifität und Sensitivität für drei verschiedene Grenzwerte berechnet. Zur Entscheidung, ob ein Patient als CF-Patient zu gelten hat, wurden klinische Gesichtspunkte und auch alle zur Verfügung stehenden Befunde berücksichtigt.

Grenzwert 40 mV:

Sensitivität:	124 von 136 Patienten korrekt erkannt	➤ 91,2 %
Spezifität:	289 von 352 Kontrollpersonen korrekt erkannt	➤ 82,1 %

Grenzwert 45 mV:

Sensitivität:	104 von 136 Patienten korrekt erkannt	➤ 76,4 %
Spezifität:	328 von 352 Kontrollpersonen korrekt erkannt	➤ 93,2 %

Grenzwert 50 mV:

Sensitivität:	89 von 136 Patienten korrekt erkannt	➤ 65,5 %
Spezifität:	344 von 352 Kontrollpersonen korrekt erkannt	➤ 97,7 %

3.3 Veränderungen der Potentialdifferenzmessung unter Einwirkung der Fahrradergometrie.

Fragestellung dieser Untersuchung war, welchen Einfluß körperliche Belastung auf die nasale Potentialdifferenz hat. Um dies herauszufinden, wurde die Potentialdifferenz vor und nach einer fahrradergometrischen Belastung registriert. Diese Messungen wurden sowohl bei CF-Patienten, als auch bei gesunden Freiwilligen vorgenommen.

3.3.1 Potentialdifferenzmessungen bei Gesunden vor und nach der Fahrradergometrie

Vor und nach der Fahrradergometrie gesunder Probanden (n=66) wurden jeweils 2 Potentialdifferenzmessungen durchgeführt, aus denen der Mittelwert berechnet wurde.

Vor der Ergometrie fand sich für gesunde Probanden ein Mittelwert von $-25,7$ mV mit einer Standardabweichung von $9,2$ mV und einer mittleren Abweichung vom Mittel von $7,1$. Die Spannweite betrug $-10,5$ mV bis -46 mV. Schon in den Basalwerten erkennt man eine leichte Überlappung mit dem pathologischen Bereich (s.o.).

Der Mittelwert nach der Fahrradergometrie betrug $-31,1$ mV mit einer Standardabweichung von $9,9$ mV und einer mittleren Abweichung vom Mittel von $8,4$ (vgl. Abb. 17). Wie in Abschnitt 2.3.2 erläutert geht man bei einer Änderung von $\geq 7\%$ von einem signifikanten Anstieg bzw. einem Abfall aus.

Bei Betrachtung der einzelnen Werte fällt bei 5 Messungen ein Absinken der PD auf, bei 21 Messungen bleibt die PD weitestgehend unverändert, während bei 40 Messungen ein Anstieg zu verzeichnen ist (Abb. 19).

Die Spannweite der Potentialdifferenz nach der Ergometrie betrug $-12,5$ bis -53 mV.

Bei diesen Werten fällt auf, daß die Überschneidung mit dem pathologischen Bereich noch deutlicher ist als unter Ruhebedingungen. Vor der Ergometrie liegen von insgesamt 66 Messungen nur 2 Messungen im pathologischen Bereich und 8 Messungen im Grenzbereich. Nach der Ergometrie liegen jedoch 7 im pathologischen und 18 im Grenzbereich. Dies ist eine deutliche Verschiebung in den pathologischen Bereich nach Fahrradergometrie.

Berechnet man die prozentuale Änderung der Potentialdifferenz so kommt man zu folgendem Ergebnis (vgl. Abb. 18): Bei 8 % der Probanden ist ein Absinken der PD zu sehen, bei 32 % keine Änderung und bei 60 % ist ein Anstieg zu erkennen. Der Anstieg insgesamt ist signifikant mit einem $p < 0.001$. Die prozentualen Änderungen der einzelnen Probanden ist in Abb. 19 dargestellt. Der „Drift“ zu einer höheren PD wird dadurch veranschaulicht.

Abb. 17: PD-Werte vor und nach Ergometrie mit DAM (Box) und doppelter DAM (Linie) bei Kontrollpersonen(n=66), sign. Änderung ($p < 0.001$)

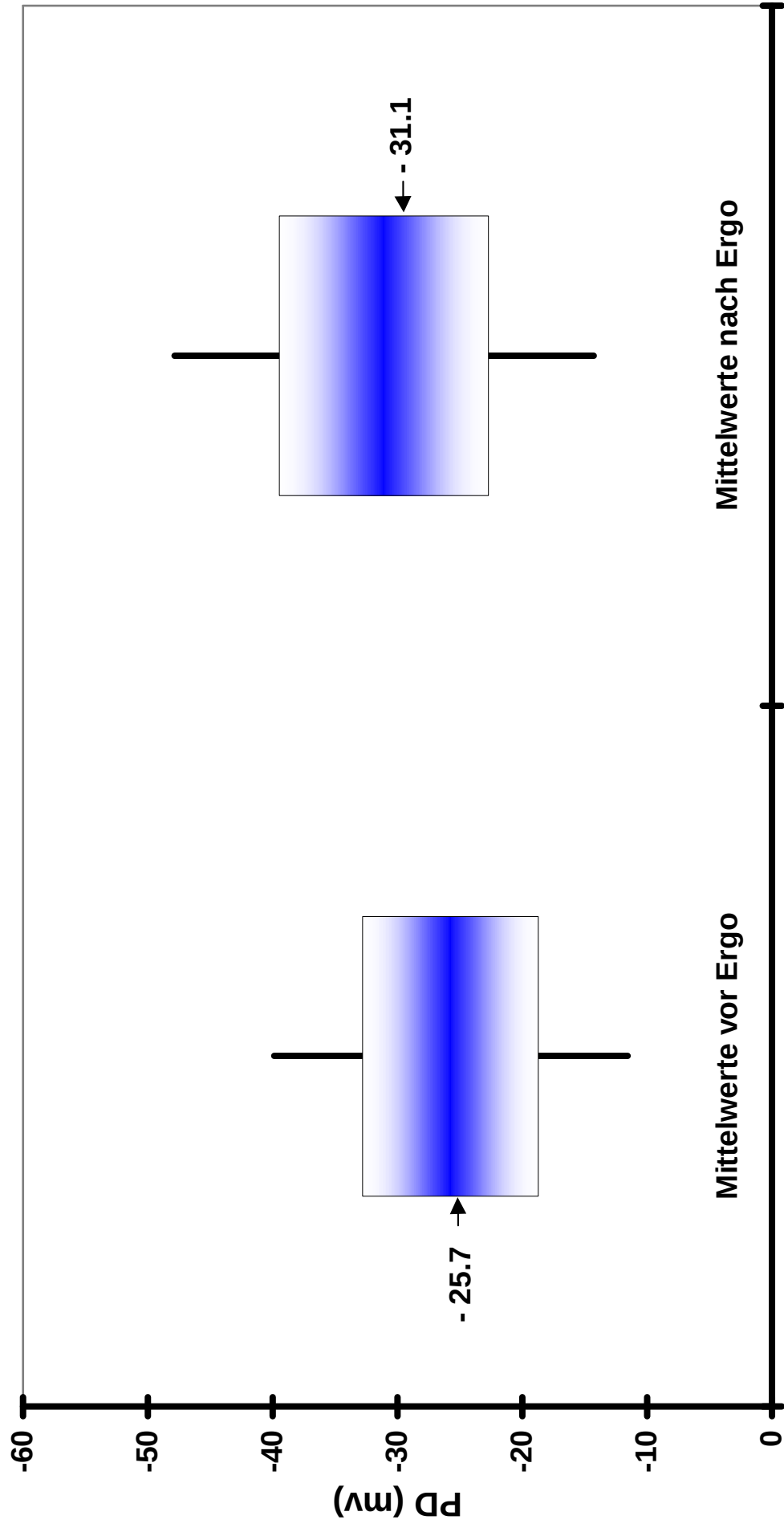


Abb. 18: Prozentuale Änderungen der PD durch Ergometrie bei 66 gesunden Probanden.

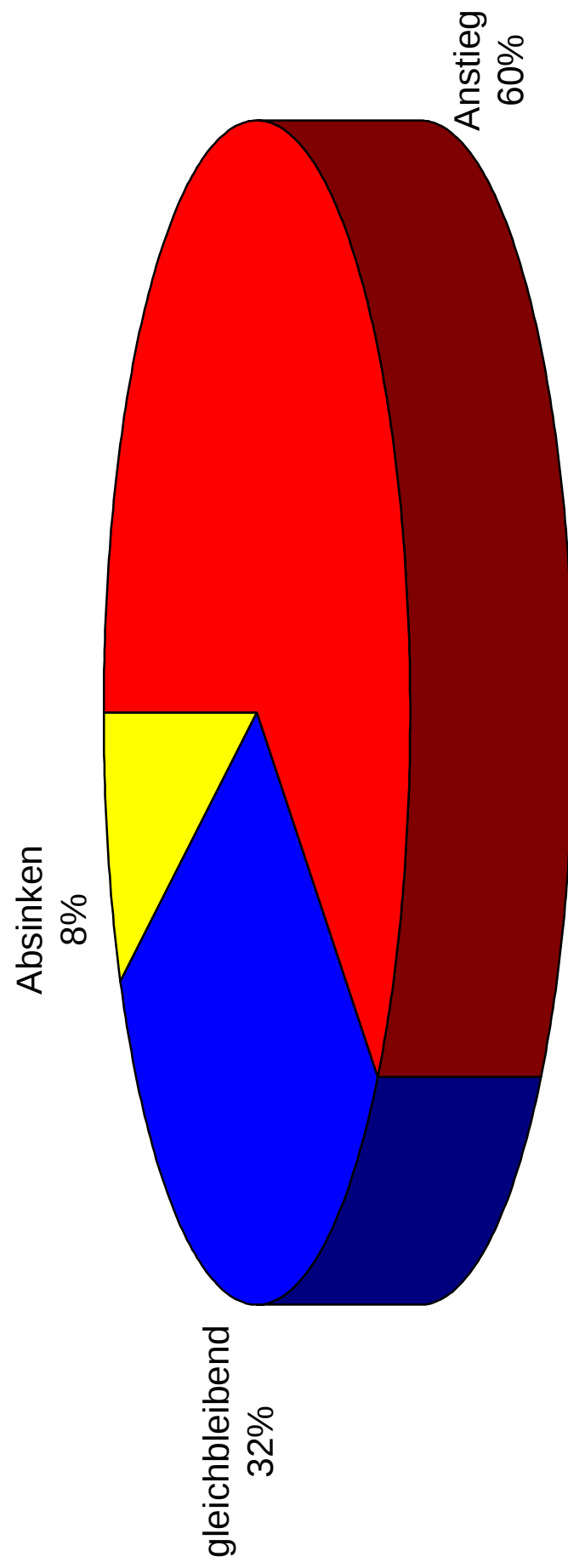
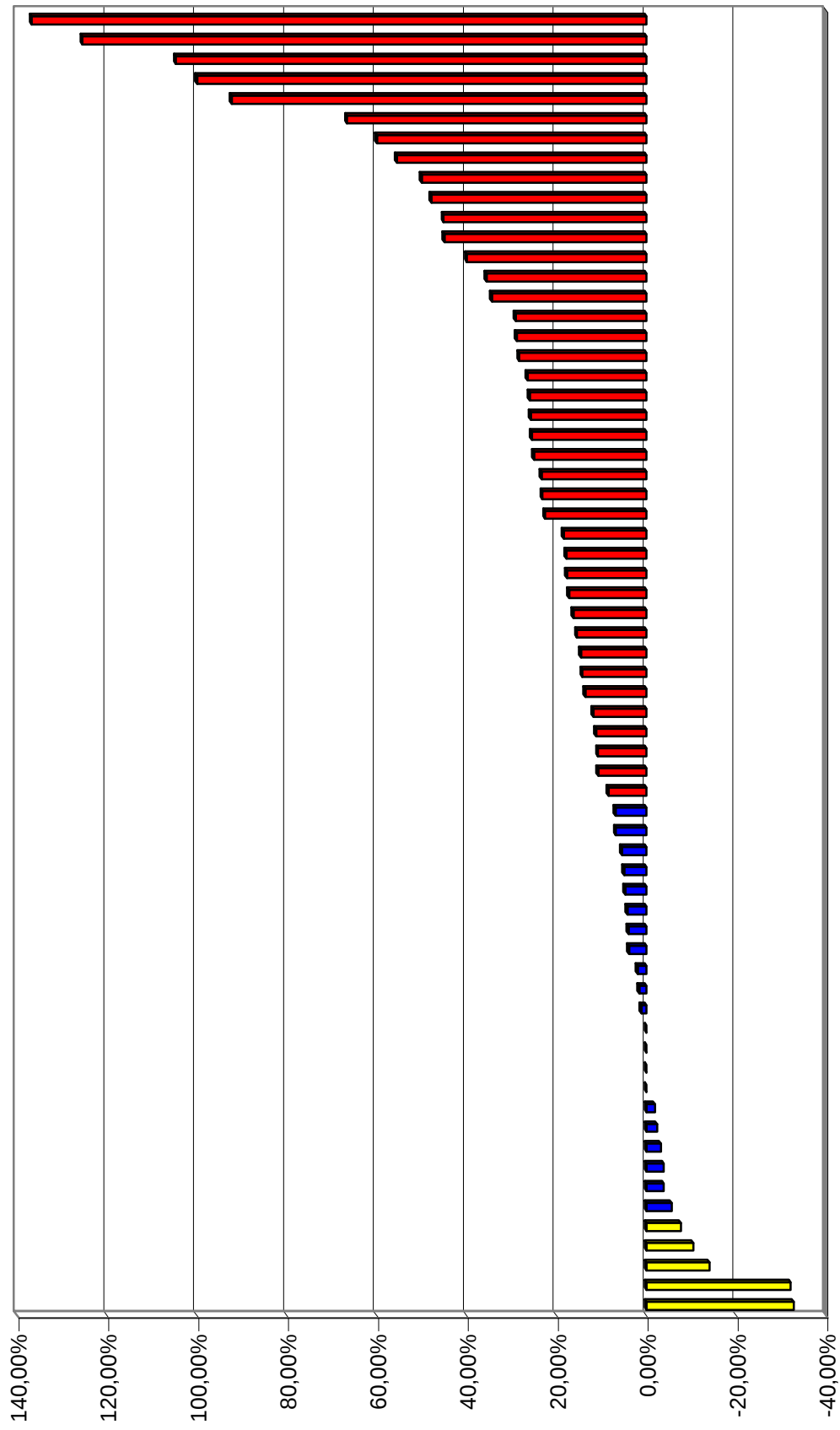


Abb.19: Prozentuale Veränderung der PD durch Ergometrie bei Kontrollpersonen



3.3.2 Potentialdifferenzmessungen bei CF-Patienten vor und nach der Fahrradergometrie

Bei den CF-Patienten ergab sich vor der Fahrradergometrie ein Mittelwert von $-48,4$ mV mit einer Standardabweichung von $13,9$ mV. Die Spannweite betrug -22 mV bis $-92,5$ mV. Eine Überlappung in den gesunden Bereich ist auch bei diesem Kollektiv erkennbar (Tab.4).

Nach der Fahrradergometrie betrug der Mittelwert $-47,4$ mV mit einer Standardabweichung von $17,1$ mV (vgl. Abb. 20). Die Spannweite nach der Ergometrie betrug -21 bis $-91,5$ mV. Es fällt auf, daß sich weder Mittelwert noch die Spannweite signifikant geändert haben ($p = 0,3$). Dasselbe bemerkt man auch bei einer Betrachtung der Einzelmessungen, wo sowohl ansteigende als auch gleichbleibende und abfallende Meßpaare zu sehen sind (Abb.22)

Die Änderung der Potentialdifferenz (um $\geq 7\%$) ist in Abb. 21 dargestellt. Bei den CF-Patienten zeigt 39% einen Abfall um mehr als 7% , bei 20% änderte sich die Potentialdifferenz nicht und bei 41% stieg die Potentialdifferenz an (vgl. Abb. 21).

Aus diesen Resultaten läßt sich ein prinzipiell anderes PD-Verhalten als bei gesunden Probanden ableiten (vgl. Tab. 4).

Tab. 4: PD vor und nach Fahrradergometrie von Gesunden und CF-Patienten

	x (mV)	s	DAM	Min.(mV)	Max. (mV)
Gesunde vor Ergo (n=66)	-27,5	9,2	7,1	-10,5	-46,0
Gesunde nach Ergo	-31,1	9,9	8,4	-12,5	-53,0
CF-Pat. vor Ergo (n=41)	-48,4	13,9	10,4	-22	-92,5
CF-Pat. nach Ergo	-47,4	17,1	13,6	-21	-91,5

Abb. 20: PD-Werte vor und nach Ergometrie mit DAM (Box) und doppelter DAM (Linie) bei CF-Patienten (n=41)

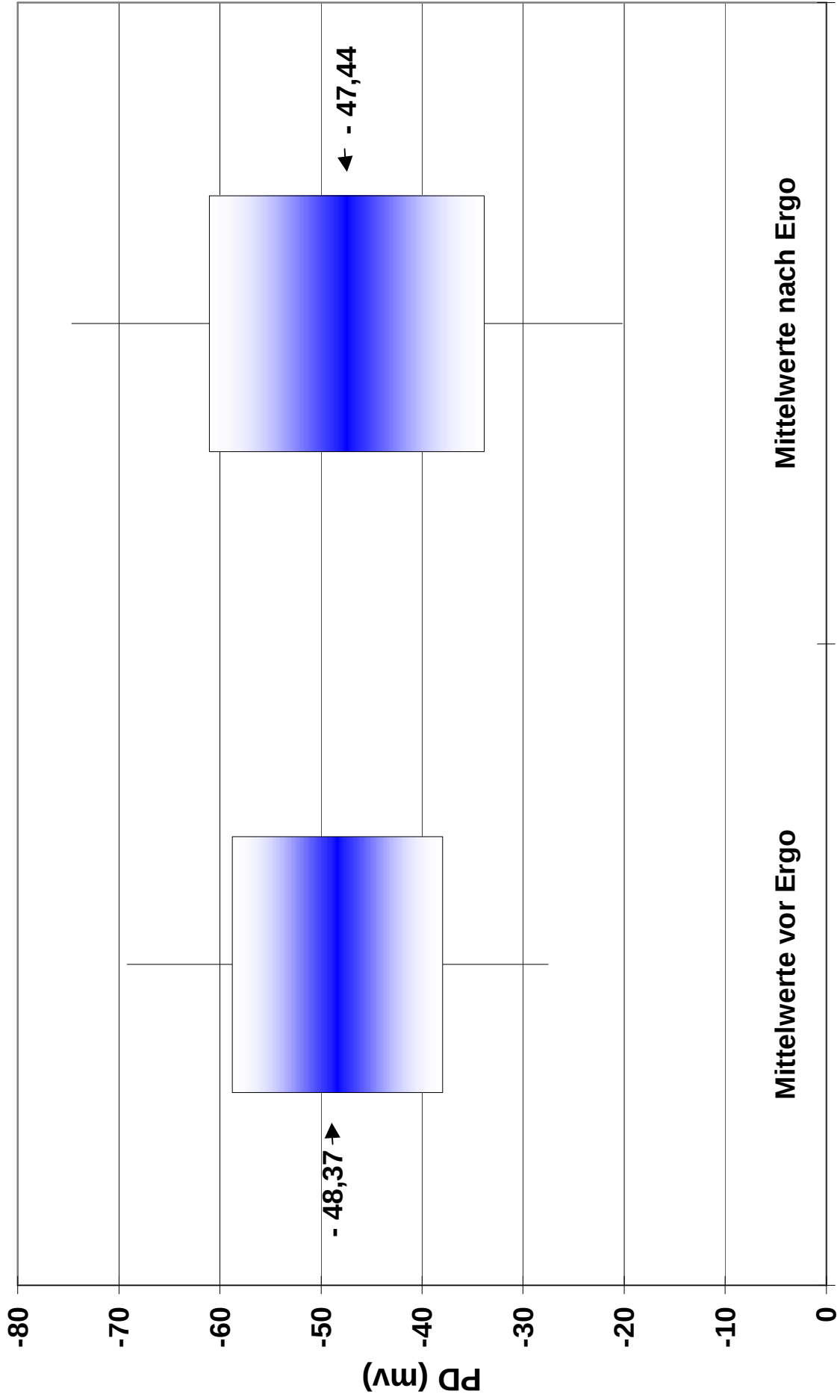


Abb.21: Signifikante Änderungen durch Ergometrie bei CF-Patienten

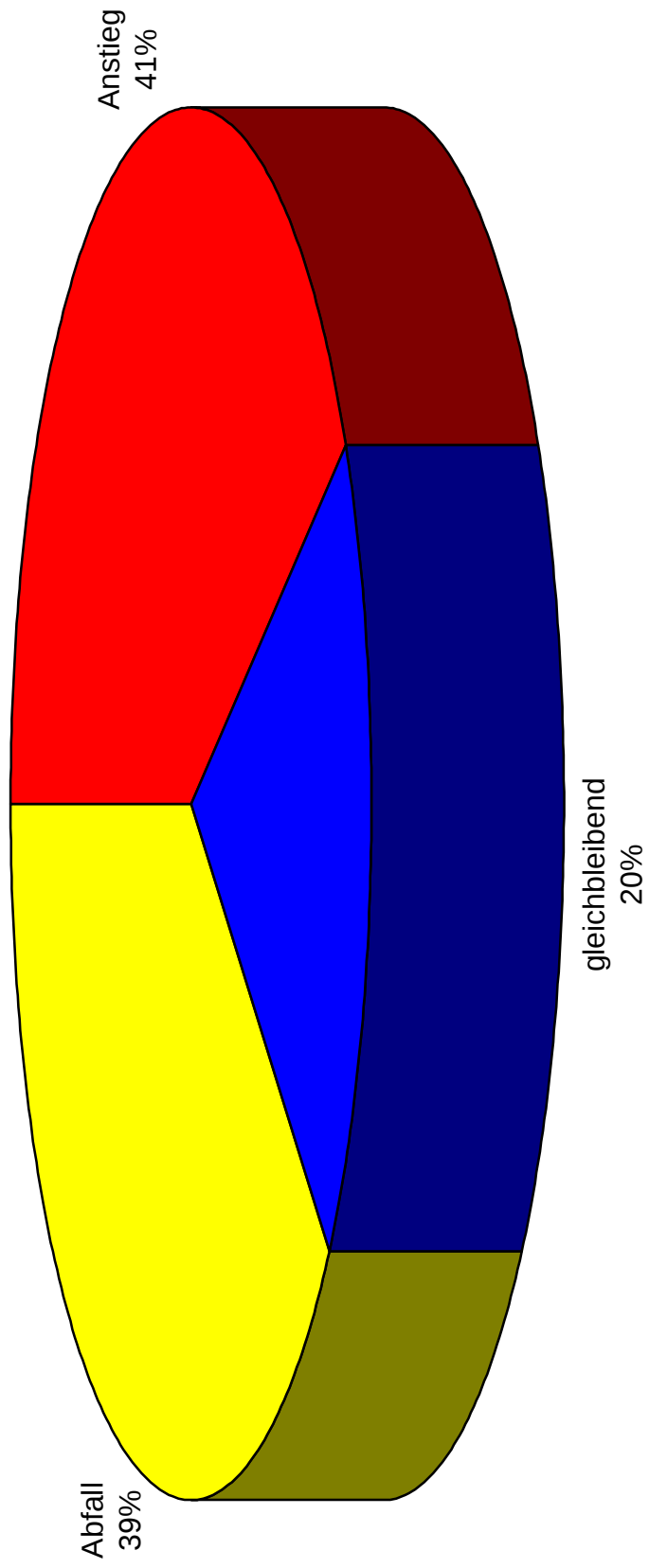
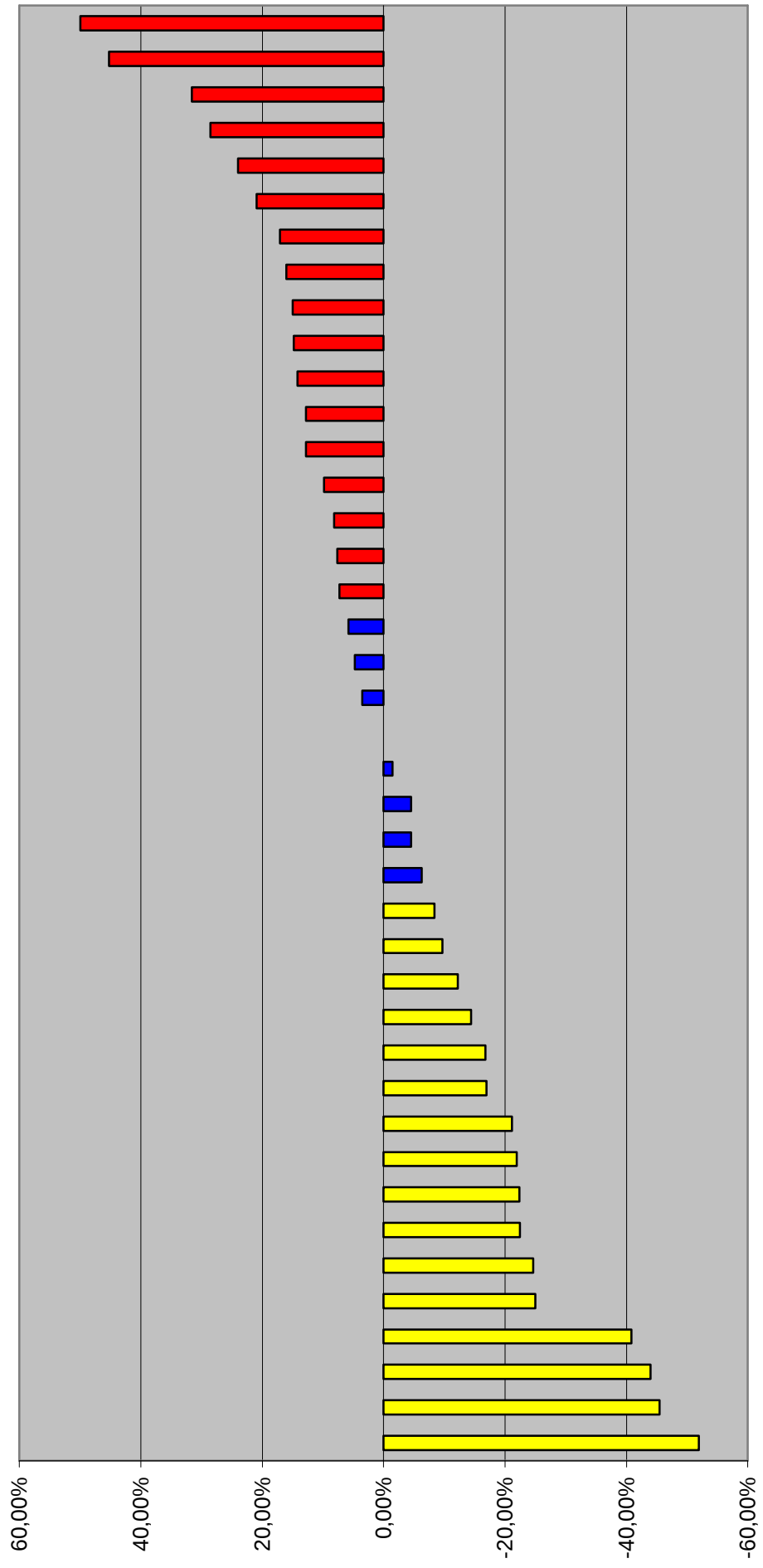


Abb.22: Änderung der PD-Messung durch Ergometrie bei CF-Kranken



3.4 Veränderungen der Potentialdifferenzmessung unter Kaltluftexposition während Fahrradergometrie

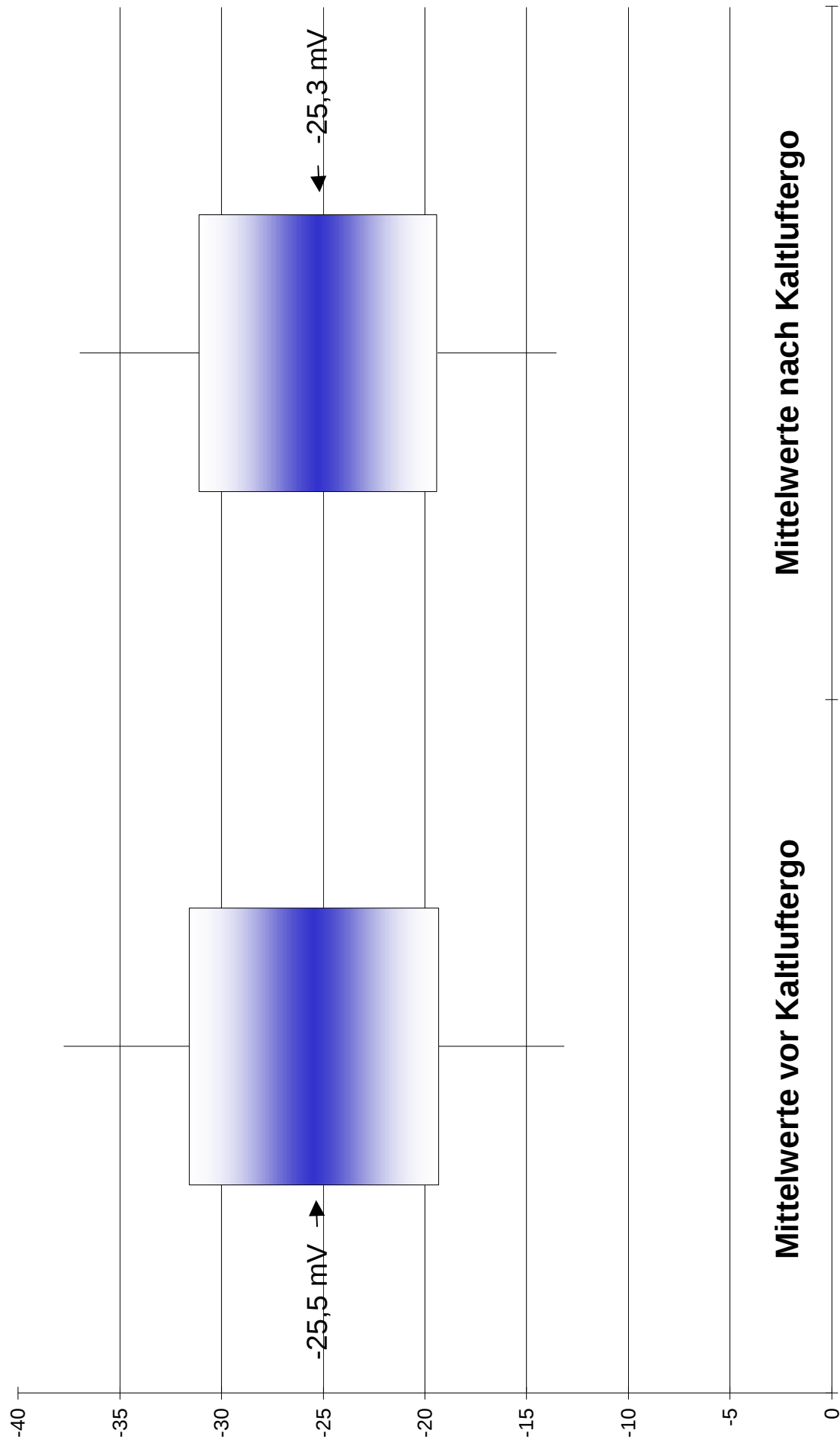
Anhand dieser Untersuchung sollte geklärt werden, in wie weit sich die gezeigten Änderungen der Potentialdifferenzmessung auch unter einem unspezifischem Stimulus wie Einwirkung kalter Luft reproduzieren lassen. Dazu wurde die Fahrradergometrie mit einer Kaltluftexposition über eine Gesichtsmaske kombiniert.

3.4.1 Potentialdifferenzmessungen bei Gesunden vor und nach der Fahrradergometrie mit Kaltluftexposition

Wie Abbildung 23 verdeutlicht, ergab sich bei den Gesunden bei der Ausgangsmessung ein Mittelwert von $-25,5 \text{ mV}$ mit einer Standardabweichung von $7,3 \text{ mV}$ und einer mittleren Abweichung vom Mittel von $6,2 \text{ mV}$. Die Spannweite betrug $-13,5 \text{ mV}$ bis -38 mV . Nach der Fahrradergometrie betrug der Mittelwert $-25,25 \text{ mV}$ mit einer Standardabweichung von $7,39 \text{ mV}$. Die Spannweite nach der Ergometrie betrug -9 bis $-36,5 \text{ mV}$ (Tab.5). Die Veränderung betrug im Mittel lediglich $0,2 \text{ mV}$.

Die Änderung der Potentialdifferenz beim einzelnen Probanden ($\geq 7\%$) ist in Abb.23 dargestellt. Bei 32% der Patienten ist ein signifikanter Abfall zu sehen. Bei 16% der Patienten ist keine signifikante Änderung zu bemerken, bei 52 % liegt ein signifikanter Anstieg vor.

Abb. 23: PD-Werte vor und nach Kaltluftapplikation während Fahrradergometrie mit DAM (Box) und doppelte DAM (Linie) bei Gesunden (n=20)



3.4.2 Potentialdifferenzmessungen bei CF-Patienten vor und nach der Fahrradergometrie mit Kaltluftexposition

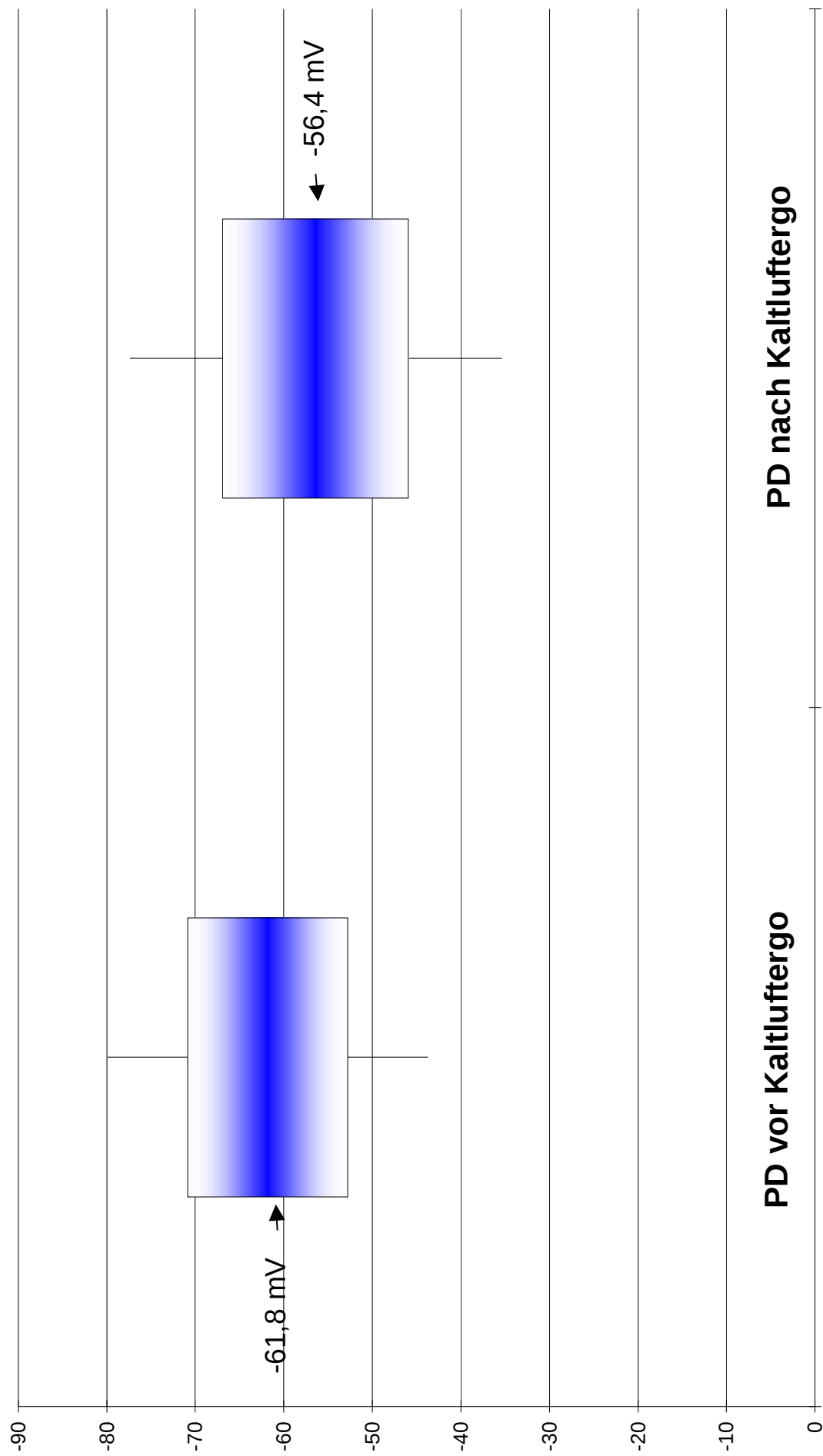
Auch bei den CF-Patienten wurden jeweils vor und nach der Fahrradergometrie mit Kaltluftexposition Potentialdifferenzmessungen durchgeführt. Abb. 24 veranschaulicht die Ergebnisse. Es ergab sich vor der Fahrradergometrie ein Mittelwert von $-61,8$ mV mit einer Standardabweichung von $11,4$ mV und einer DAM von 9 mV. Die Spannweite betrug -35 mV bis $-81,5$ mV (Tab. 5). Es wurden nur Messwerte der CF-Patienten berücksichtigt, die in der Lage waren, die Fahrradergometrie mit Kaltluftexposition durchzuhalten. Nach der Fahrradergometrie mit Kaltluftexposition betrug der Mittelwert $-56,4$ mV mit einer Standardabweichung von $12,8$ mV und einer DAM von $10,5$. Die Spannweite nach der Ergometrie betrug $-36,5$ bis $-82,5$ mV (vgl. Tbl. 5).

Ein signifikanter Einfluß der Kaltluftinhalation unter fahrradergometrischer Belastung auf die nasale PD ließ sich nicht nachweisen.

Tab. 5: PD vor und nach Fahrradergo plus Kaltluft von Gesunden und CF-Patienten

	$\bar{x}$ (mV)	s	DAM	Min. (mV)	Max. (mV)
Gesunde vor Ergo	-25,5	7,3	6,15	-13,5	-38,0
Gesunde nach Ergo + Kaltluft	-25,3	7,4	5,85	-9,0	-36,5
CF-Pat. vor Ergo	-61,8	11,4	9,05	-35	-81,5
CF-Pat. nach Ergo + Kaltluft	-56,4	12,8	10,5	-36,5	-82,5

Abb. 24: PD-Werte vor und nach Kaltluftapplikation während Fahrradergometrie mit DAM (Box) und doppelte DAM (Linie) bei CF-Patienten (n=18)



3.4.3 Bilanz des Vergleiches Fahrradergometrie ohne und mit Kaltluft

Wenn man die Ergebnisse zwischen der Potentialdifferenz bei Fahrradergometrie mit und ohne Kaltluft vergleicht fällt auf, daß die Veränderungen mit Kaltluft wesentlich geringer ausfallen (Tab.5).

Ein signifikante Anstieg bei Kontrollpersonen ohne Kaltluftprovokation war unter Kaltluftprovokation nicht zu beobachten.

3.5 Pilotstudie zur Wirksamkeit von Amiloridpulver

Ziel dieser Untersuchung war es, festzustellen, ob sich mit dem Natriumblocker Amilorid in Form eines Trockeninhalats eine Verminderung der Potentialdifferenz an der nasalen Mukosa herbeiführen lässt. Im positiven Fall sollte geklärt werden, mit welcher Dosis ein optimaler Effekt auf die PD zu erzielen ist.

Zur Prüfung der klinischen Wirksamkeit wurde 42 Patienten Amilorid in Pulverform (1,2,3 oder 6 Hub) verabreicht. Die Zuteilung zu den einzelnen Gruppen erfolgte nach dem Zufallsprinzip.

3.5.1 Änderung der Potentialdifferenz durch Applikation von Amiloridpulver

Zur Ermittlung des Ausgangswertes wurden 2 initiale Messungen durchgeführt. Die Ausgangswerte in den verschiedenen Gruppen stimmten weitgehend überein. Die Mittelwerte lagen zwischen -50.9 und -54.4 mV (Tab. 6).

Tab.6: Mittelwerte (x), Standardabweichung (s) und Gesamtbereich der Ausgangswerte der Patienten, die nasal 1, 2, 3 oder 6 Hübe Amiloridpulver erhielten (Gruppe I-IV)

Gruppe	X (mV)	s	Range (mV)
I	-52,2	14,2	-22 bis -82
II	-52,8	10,9	-30 bis -73
III	-54,4	9,5	-37,5 bis -70,5
IV	-51,3	7,3	-21,5 bis -66

Danach wurden den Patienten je nach Gruppenzugehörigkeit 1 - 6 Hub Amilorid mittels MAG-Haler nasal appliziert.

Nach einer Einwirkzeit von 10 Minuten wurde erneut die Potentialdifferenz gemessen.

Die Resultate sind Tab. 7 zu entnehmen.

Tab.7: Mittelwert (x), Standardabweichung (s) und Gesamtbereich der Werte nach Inhalation sowie prozentuale Änderung der PD bei Patienten, die nasal 1, 2, 3 oder 6 Hübe Amiloridpulver erhielten (Gruppe I-IV). Signifikante Änderungen gegenüberder Gruppe mit der jeweils niedrigeren Dosis sind markiert (*)

Gruppe	x (mV)	s	Range (mV)	% - Änderung
I	-27.3	10.0	-13 bis -50	46,7 %
II	-18.2	8.9	-8,5 bis -42,5	60,8 % *
III	-21.8	7.1	-14,5 bis -40,5	59,4 %
IV	-13.3	5.1	-9 bis -26	68,5 % *

Aus diesen Daten geht hervor, daß bereits 1 Hub Amilorid eine signifikante Reduzierung der nasalen PD zur Folge hat. Die prozentuale Änderung nimmt insgesamt mit steigender Amilorid-Dosis zu. Lediglich im Vergleich von Gruppe II mit Gruppe III ist keine Änderung zu verzeichnen. Wie die geringeren Standardabweichungen zeigen, nimmt die Streubreite der PD-Werte in den einzelnen Gruppen mit höherer Inhalationsdosis ab. Die Änderungen zwischen den Gruppen sind bis auf die Änderungen zwischen Gruppe 2 und 3 signifikant. Das Signifikanzniveau beträgt zwischen Gruppe 1 und 2 $p=0,0052$ sowie zwischen Gruppe 3 und 4 $p=0,0335$ (getestet mittels Wilcoxon Rangsummentest).

Die Abbildungen 25 und 26 verdeutlichen diese Veränderungen der Potentialdifferenz in Abhängigkeit von der Amilorid-Dosis.

Abb. 25: Veränderung der Potentialdifferenz bei CF-Patienten nach Amiloridinhalation (in Abhängigkeit von der Amilorid-Dosis)

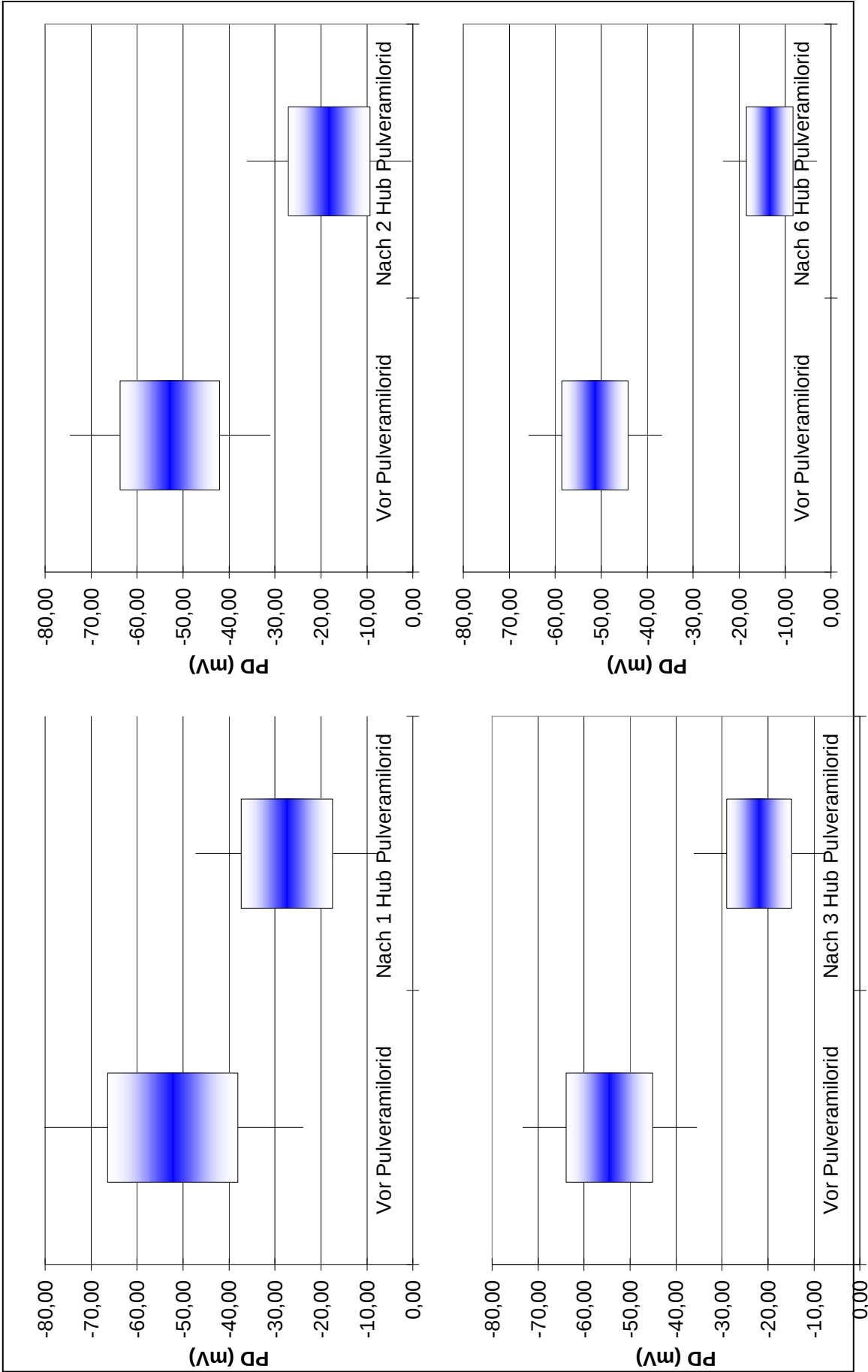
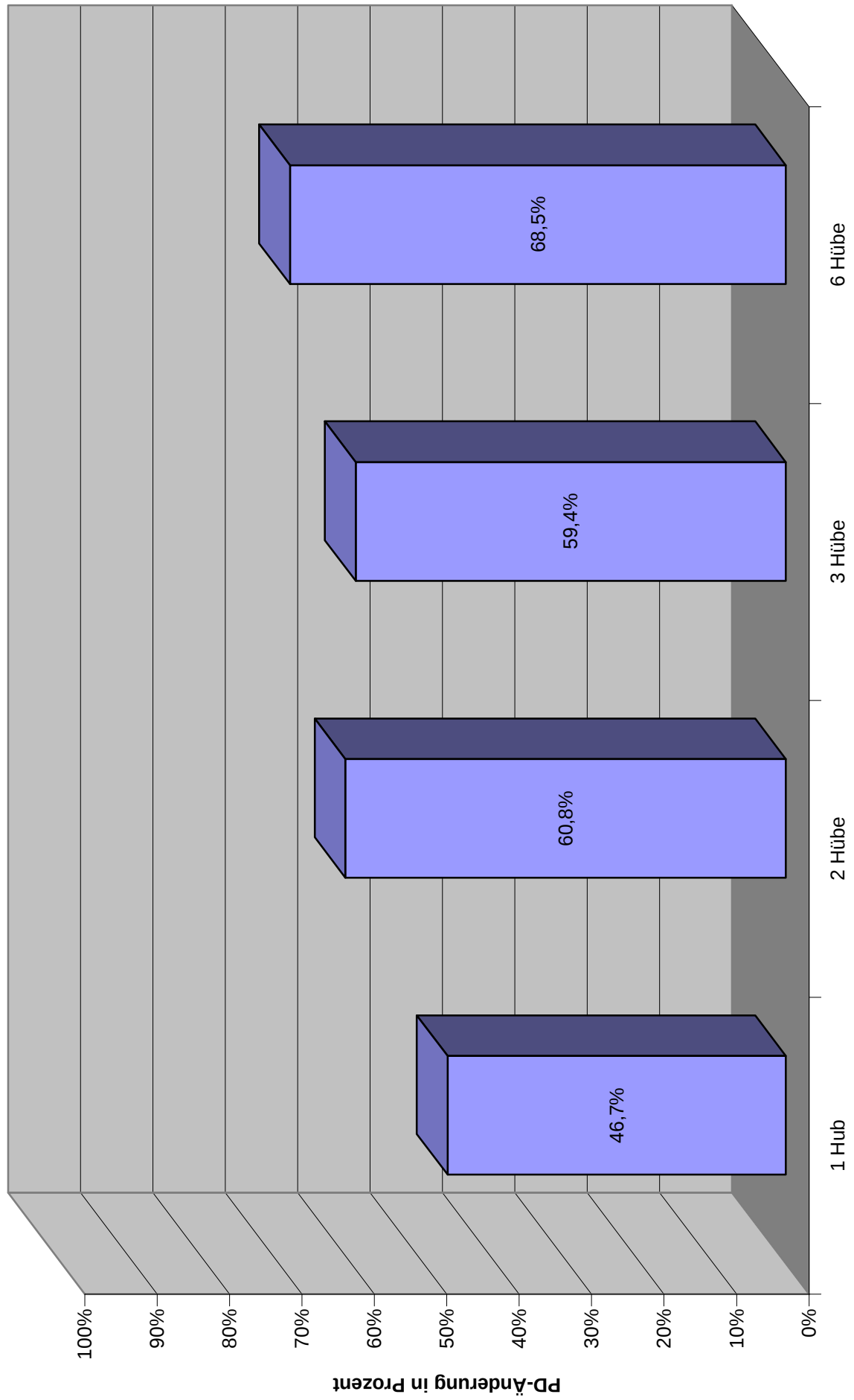


Abb. 26: Prozentuale Änderung der Potentialdifferenz (PD) nach Amiloridinhalation (in Abhängigkeit von der Amilorid-Dosis)



3.5.2 Zeitverlauf der Amiloridsenkungen

In den Gruppen III (3 H. Amilorid) und IV (6 H. Amilorid) wurden Zeitverlaufsmessungen vorgenommen, um die Wirkungszeit des Amiloridpulvers zu bestimmen.

Dazu wurden bei 8 Messungen der Gruppe III und bei 7 Messungen der Gruppe IV im Anschluß an die Ausgangsmessung und die Messung nach 10 min, jeweils im 30 Minuten Abstand von der Ausgangsmessung, weitere PD-Messungen vorgenommen. Wenn sich der Meßwert dem Ausgangswert wieder annäherte wurden die Meßabstände auf 15 Minuten verkürzt. Die Kurvenverläufe werden auf der nachfolgenden Grafik (Abb. 27) dargestellt. Die Potentialdifferenzwerte wurden auf einen prozentualen Wert umgerechnet, wobei 100% dem Ausgangswert vor Amiloripulverinhalation und 0% einer Potentialdifferenz von 0 mV entspricht. Abbildung 28 stellt der Übersichtlichkeit halber jeweils die mediane Kurve beider Gruppen dar.

Man sieht an dem Verlauf der Zeitkurven, daß bei Applikation von 6 Hub Amilorid in Pulverform im Mittel sowohl eine stärkere prozentuale Senkung, als auch eine längere Dauer der Senkung erreicht wird.

Abb. 27: Zeitverläufe des Potentialdifferenzabfalls nach Gabe von 3 bzw. 6 Hub Pulveramidorid

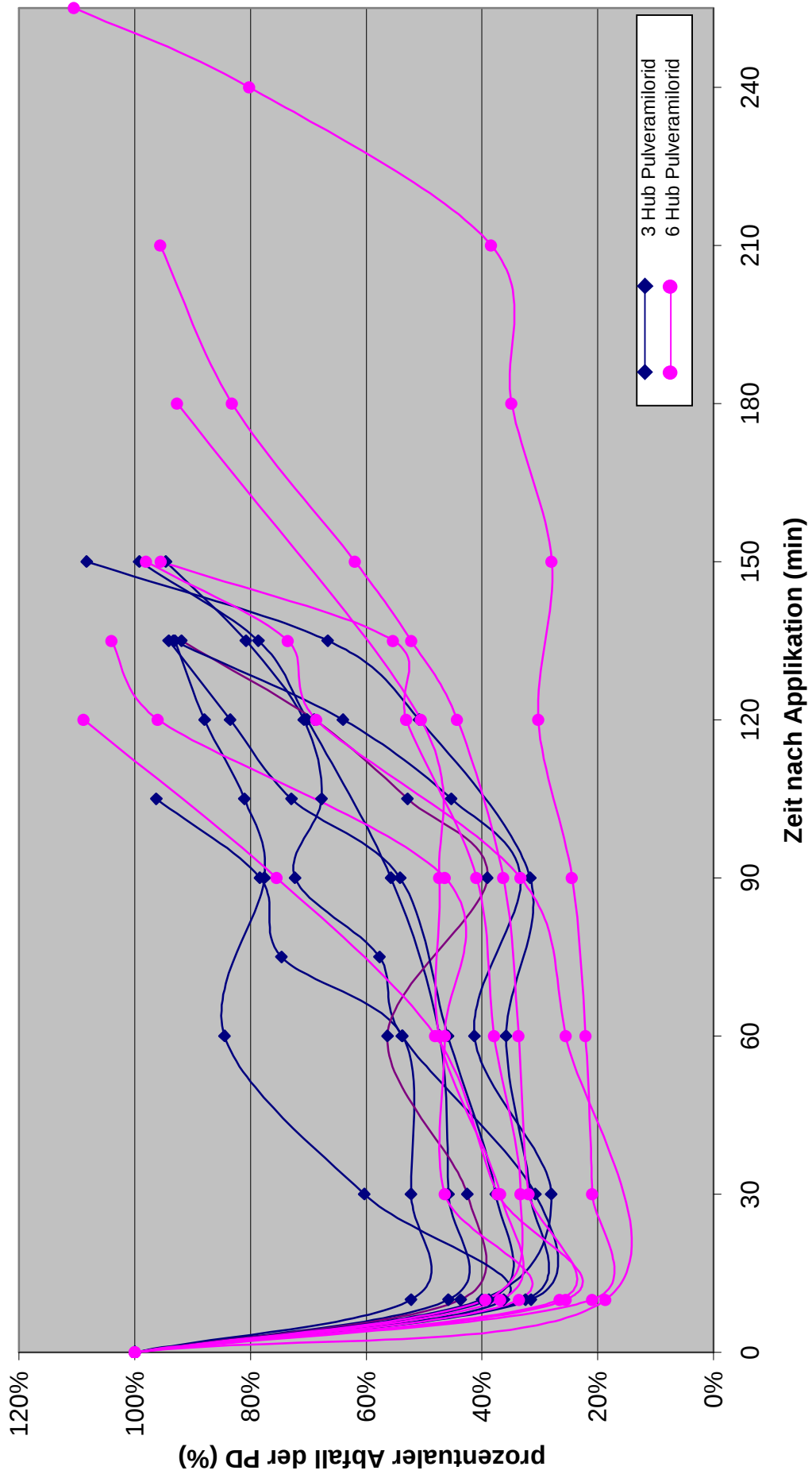
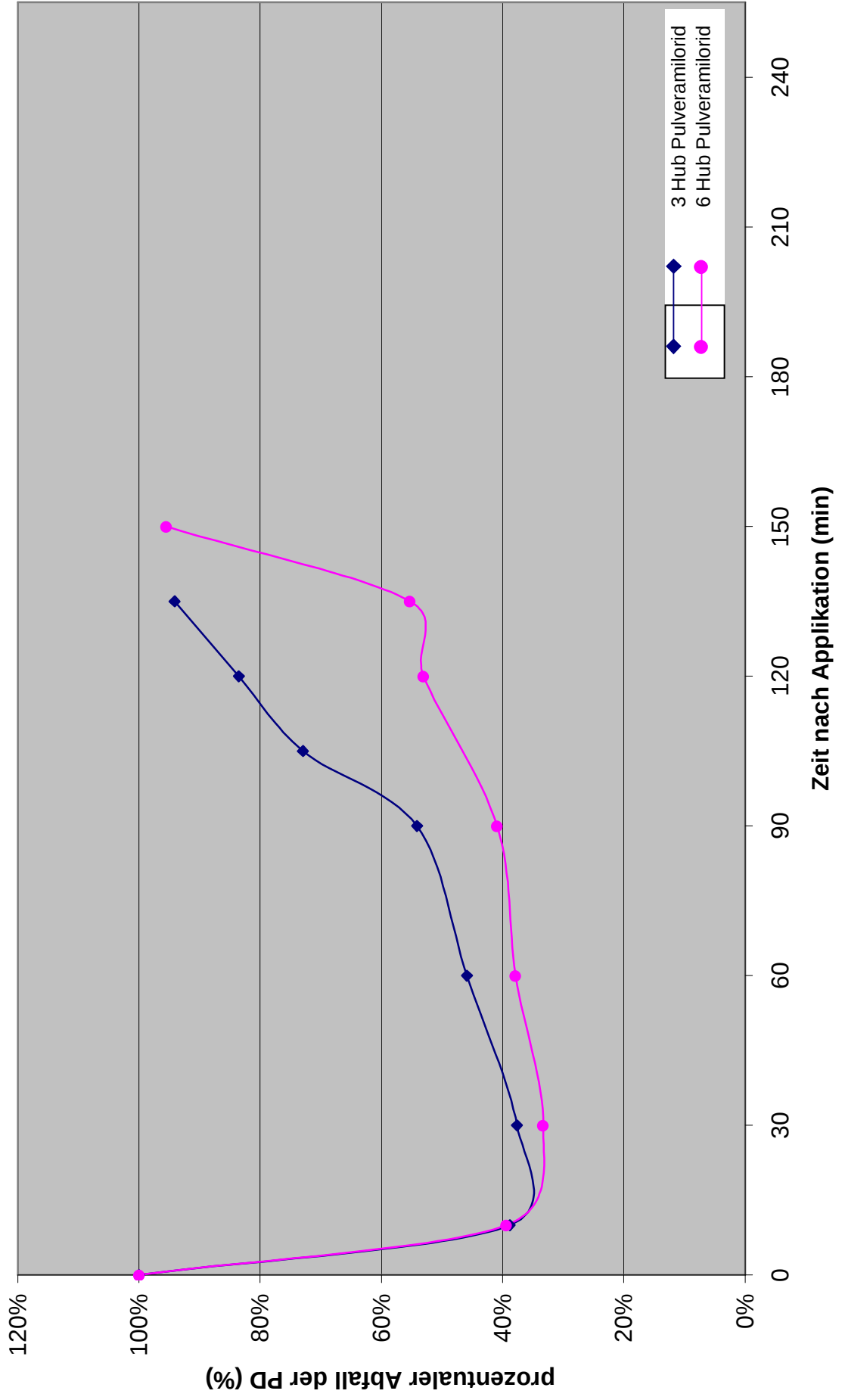


Abb.28: Abbildung der medianen Kurve des Potentialdifferenzabfalls bei Gabe von 3 bzw. 6 Hub Pulveramidorid



4 Diskussion

4.1 Hintergrund

Die nasale Messung der Potentialdifferenz (PD) ist bislang wegen des damit verbundenen Aufwandes nur an wenigen Mukoviszidosezentren als Standarddiagnostik etabliert. Ziel dieser Untersuchungen war es, zum einen verschiedene Einflüsse auf die Potentialdifferenz zu untersuchen, zum anderen durch den Vergleich mit anderen diagnostischen Verfahren eine Basis zur Beurteilung des Stellenwertes der PD zu erhalten.

Die Abgrenzung zwischen gesunden Probanden, CF-Patienten und anderen Patienten kann Schwierigkeiten bereiten. Die klassischen Mukoviszidosepatienten, die eine charakteristische Symptomatik haben (Dystrophie, schwere Lungenmanifestation, Pankreasinsuffizienz) und eine positive CF-spezifische Diagnostik aufweisen (erhöhte NaCl-Sekretion im Schweißtest, erhöhte nasale Potentialdifferenz und zwei der bekannten Genmutationen) sind einfach einzuordnen.

Darüberhinaus werden aber immer mehr Formen der Mukoviszidose erfaßt, die von diesem "klassischen" Krankheitsbild abweichen und mit einer deutlich milderen Verlaufsform einhergehen, das heißt sich z.T. nur pulmonal oder nur gastrointestinal manifestieren. Es stellte sich nun die Frage, wie man bei diesen Personen letztendlich eine Entscheidung trifft, ob sie nun CF-Patienten sind oder einer anderen Krankheitsgruppe (Asthma bronchiale bei Atemwegsbeschwerden oder Shwachman-Syndrom bei Pankreasinsuffizienz) zuzuordnen sind. Wir entschieden uns zu einer Einteilung vorwiegend nach klinischen Gesichtspunkten in Kombination mit der Gesamtübersicht aller diagnostischen Befunde. Diese Einteilung erfolgte nach besten Wissen und Gewissen.

4.2 „Sollwertbereich“ für die nasale Potentialdifferenz

Während die Sollwertbereiche für die Ergebnisse der Schweißanalyse bekannt sind, fehlte es bisher noch an einer ausreichenden Zahl von PD-Messungen an Gesunden, so daß zunächst eigene Sollwertbereiche erstellt werden mußten. Aufgrund der eigenen Meßergebnisse wurde der obere Grenzwert für Gesunde bei -45 mV (Mittelwert + doppelte DAM) festgelegt. Bei CF-Patienten wurden Werte von -9 bis -103 mV beobachtet, so daß man im unteren Bereich bis -45 mV keine scharfe Grenze ziehen kann. Inzwischen liegen gesicherte Erkenntnisse darüber vor, daß die alleinige Angabe von absoluten PD-Werten wegen des großen Überlappungsbereiches zwischen Gesunden und CF-Patienten als diagnostisches Kriterium unzulänglich ist [1].

4.3 Vergleich verschiedener diagnostischer Methoden

In der vorliegenden Arbeit fällt bei der Auswertung der Daten der **Schweißanalyse** von CF-Patienten ein relativ großer Anteil von nicht pathologischen Ergebnissen (18%) und grenzwertigen Ergebnissen (17%) auf.

Diese dürfte dadurch zu erklären sein, daß relativ viele Patienten mit einem negativen Schweißtestergebnis, bei denen allerdings aufgrund des klinischen Bildes ein dringender Verdacht auf Mukoviszidose besteht, zur Durchführung einer Potentialdifferenz-Messung nach Gießen überwiesen werden. In anderen CF-Ambulanzen liegt dieser Anteil vermutlich deutlich niedriger.

Betrachtet man bei der gleichen Patientengruppe die PD-Meßwerte, so fällt auf, daß die Potentialdifferenz ein gleichwertiges Verfahren darstellt. Es liefert ähnlich viele richtig positive Ergebnisse wie die Iontophorese (76% versus 65%). Die Differenz läßt sich sicherlich auch wieder aus der Selektion des Patientkollektivs erklären.

Die graphischen Darstellungen machen deutlich (Abb. 9 und 10), daß bei dem untersuchten Patientenkollektiv beide Methoden alleine meist nicht ausreichen, eine Mukoviszidose zweifelsfrei zu diagnostizieren bzw. eindeutig auszuschließen.

Wird die Iontophorese mit der Potentialdifferenzmessung (Grenzwert -45 mV) kombiniert, so steigt die diagnostische Sicherheit deutlich. Bei nur 4 % der Patienten entsteht nicht mindestens der Verdacht einer Mukoviszidose durch ein mindestens grenzwertiges Testergebnis und bei weiteren 8 % ist nicht schon mindestens ein Test pathologisch. Man erkennt daran, daß eine Kombination verschiedener Testverfahren eine deutliche Steigerung der Sensitivität mit sich bringt.

Lange Zeit wurde der Schweißtest als der Goldstandard in der Mukoviszidose-diagnostik betrachtet, allerdings wurde festgestellt, daß die Iontophorese nicht bei allen CF-Patienten pathologische Ergebnisse liefert. Auch kann ein Ergebnis durch eine zu geringe Schweißproduktion oder durch methodische Mängel in der Durchführung falsch positiv ausfallen [147]. Dabei sind insbesondere ein Dehydratationszustand und das Vorliegen einer atopischen Dermatitis zu berücksichtigen [147]. Auch aufgetragene Salben können zu falsch positiven Ergebnissen führen.

Ferner muß bei der Interpretation der Ergebnisse auch die Analyse-methode der Iontophorese (in Gießen: Leitfähigkeitsbestimmung) berücksichtigt werden. Allerdings wurden mehrere der negativen Schweißtests auch von anderen Kliniken mit anderen Bestimmungsmethoden des Natrium bzw. des Chlorids (z.B. flammenphotometrisch) bestätigt, so daß die Methode als grundsätzliche Fehlerquelle weitestgehend ausgeschlossen werden kann [40]. Außerdem sind für die Leitfähigkeitsmessung eher Probleme durch die Beeinflussung durch andere Ionen (wie z.B. Bikarbonat) typisch, so daß sie im Vergleich zu anderen Methoden eher zu falsch positiven Ergebnissen führt. Die Sensitivität läßt sich durch Wiederholung der einzelnen diagnostischen Tests steigern, um oben beschriebene Störeffekte und auch methodische Fehler zu minimieren. Dies ließ sich bei einem Vergleich der beiden Methoden nicht mit berücksichtigen, da z.B. Schweißtests bei kleineren Kindern wesentlich leichter wiederholbar sind als eine nasale Potentialdifferenzmessung, die in Deutschland bisher nur an wenigen Kliniken durchgeführt wird (Gießen, Hannover, Würzburg) [1]. Bei unserem Vergleich wurden aus diesem Grunde nur Ergebnisse der Erstuntersuchung der beiden diagnostischen Methoden berücksichtigt.

Eine weitere diagnostische Möglichkeit ist die Bestimmung der exokrinen Pankreasinsuffizienz mittels **Bestimmung der fäkalen Pankreaselastase I**.

Auch die Ergebnisse des Vergleichs mit der PD legen nahe, daß beide diagnostischen Verfahren bei unserer Patientengruppe den ungefähr gleichen diagnostischen Wert besitzen, obwohl sie unterschiedliche Funktionen prüfen. Auch hier ergibt die Kombination beider Diagnostikverfahren wieder deutlich besser Ergebnisse: Nur bei 3 % aller Patienten zeigt sich anhand der Erstbestimmung kein grenzwertiges oder pathologisches Ergebnis bei der Bestimmung der fäkalen Elastase 1 oder bei der Potentialdifferenzmessung. Nur bei 11 % der Patienten ist nicht mindestens 1 Meßwert

eindeutig pathologisch. Auch dies verdeutlicht die gute Ergänzung beider Untersuchungsmethoden.

Bei der Elastasebestimmung wurde analog zum Vergleich der Daten der Schweißanalyse mit der Potentialdifferenzmessung nur die erste Bestimmung der Elastasewerte berücksichtigt. Daraus folgt, daß eine gerade entstehende Pankreasinsuffizienz unter Umständen noch nicht erkannt wird, aber bei Wiederholungen eindeutig zu erkennen wäre [90].

In der Literatur findet man sehr hohe Werte für Sensitivitäts- und Spezifitätsbestimmungen für Mukoviszidose mit Pankreasbeteiligung für die fäkale Elastase 1 [54,124,133].

Die hier dargestellten diagnostischen Mängel sind nicht zuletzt darauf zurückzuführen, daß nicht jede Mukoviszidose mit einer Pankreasinsuffizienz einhergehen muß. Inzwischen weiß man sogar welche Mutationen obligatorisch mit einer Pankreassuffizienz einhergehen [23,55].

Die diagnostische Methode, die mittelfristig die sensitivste und auch spezifischste wäre, ist wohl die **Genanalyse**, da sie bei vollständiger Analyse des CF-Gens alle bisher bekannten Mutationen finden müßte. Dies ist aus Kostengründen vorerst nur bei wenigen Patienten möglich und zudem sind bisher noch nicht alle Mutationen bekannt. Man konzentriert sich daher nur auf die häufigeren Mutationen, wobei die in der Literatur angegebenen Häufigkeiten z.B. für $\Delta F508$ (ca. 70 % der CF-Patienten) selbstverständlich nur für den mitteleuropäischen Raum gelten und für Patienten anderer Herkunftsländer sicherlich geringer ausfällt [94,139]. In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, daß nicht alle Patienten mit dem in der Methodik beschriebenen Kit auf die 31 häufigsten Mutationen getestet wurden (erfaßt ca 87% der CF-Patienten), sondern teilweise mit einem Kit, das nur die 8 häufigsten Mutationen (ca. 80 % der CF-Patienten) erkennt.

Beim Betrachten der Gentestergebnisse fällt auf, daß auch mittels Gentest bei einigen Patienten eine CF-Mutation nur auf einem Allel, teilweise sogar auf keinem Allel erfaßt wurde. Wenn man davon ausgeht, daß diese Patienten tatsächlich CF-Patienten sind, müßten sie eine bzw. zwei seltenere Mutation tragen. Dies wäre nur durch eine komplette Sequenzierung des CFTR-Genes zu erkennen.

Als Erklärung für die häufige Nichterfassung von CF-Mutationen bei den untersuchten Patienten mittels der verwendeten Testkits ist erneut das besondere Patientenkollektiv zu erwähnen.

Auch hier läßt sich durch Kombination mit der Potentialdifferenz eine deutliche Steigerung der Sensitivität erreichen.

Zusammenfassend zum Vergleich der verschiedenen Methoden ist zu sagen, daß die Potentialdifferenz eine wichtige ergänzende diagnostische Methode darstellt, die gerade bei einem dringenden Verdacht auf Mukoviszidose trotz negativem Schweißtest eingesetzt werden sollte. Allerdings muß eingeräumt werden, daß die Potentialdifferenzmessung in dieser Untersuchung aufgrund des ausgewählten Patientenkollektivs besser abschneidet, als dies bei "normalen", nicht vorselektierten Patienten vermutlich der Fall wäre.

4.4 Sensitivität und Spezifität der Potentialdifferenz

Bei Betrachtung der Ergebnisse fällt auf, daß je nach angenommenem Grenzwert entweder die Spezifität oder die Sensitivität der Potentialdifferenzmessung noch verbesserungsfähig ist. Das heißt, daß je nach Grenzwert, den man festsetzt, entweder viele Gesunde als potentiell krank angesehen werden oder daß einige Kranke nicht als krank identifiziert werden. Dies entsteht durch einen gewissen Überlappungsbereich zwischen Gesunden und Kranken.

Aber selbst in der Ausgangsmessung mit einem Grenzwert von -45 mV als pathologisch und -35 mV als grenzwertig schneidet die Potentialdifferenz im Vergleich mit anderen Diagnostikmethoden sehr gut ab (s. Kap. 3.2):

Bei der Potentialdifferenz wurde nur bei 7 % der CF-Patienten eine nicht pathologische Potentialdifferenz registriert, und bei weiteren 17 % wurde ein grenzwertiger Befund erhoben.

Für diese falsch negativen Ergebnisse gibt es folgende Erklärungsmöglichkeiten:

Es gibt Untersuchungen, in denen eine Rhinitis zu einer Erniedrigung der Potentialdifferenzwerte führte [63]. Da in der vorliegenden Untersuchung nur Erstmessungen der Patienten ausgewertet wurden, können manche Ergebnisse auf die Tatsache zurückgeführt werden, daß bei den Patienten zum Zeitpunkt der Messung eine Rhinitis vorlag und bei einer Wiederholungsmessung durchaus ein pathologischer Wert zu erheben gewesen wäre. Ein zu niedriges Ergebnis kann ferner auf einen vorausgegangenen operativen Eingriff an der Nase (z.B. wegen Polyposis nasi et sinuum) zurückzuführen sein [63], weil dabei teilweise das Flimmerepithel der unteren Nasenmuschel mit beschädigt wird und somit das eigentlich für die Messung benötigte Gewebe nicht mehr zur Verfügung steht. Desweiteren könnten manche nicht pathologischen und grenzwertigen Befunde durch die mangelnde Kooperationsfähigkeit der Patienten zustande kommen. Gerade kleinere Patienten sind häufig nicht in der Lage, bei dieser Untersuchung für die notwendige Zeit einer Messung den Kopf relativ still zu halten. Der Untersucher hatte unter diesen Bedingungen Schwierigkeiten, die optimale Meßstelle zu finden.

Deswegen wird empfohlen, eine Potentialdifferenzmessung bei zweifelhaftem Befund zu wiederholen und dabei auf Infektfreiheit zu achten. Nach neuesten Erkenntnissen kann bei mangelnder Kooperation kleinerer Patienten eine rektale Potentialdifferenzmessung durchgeführt werden [120].

Darüberhinaus sollte noch erwähnt werden, daß die Bestimmung der Potentialdifferenz - wie andere diffizile Meßmethoden - nur in den Händen von Geübten verwertbare Ergebnisse liefert.

Die Spezifität und Sensitivität der nasalen Potentialdifferenzmessung läßt sich in vivo durch die Superfusionsmethode steigern, bei der durch Amilorid erst die Natriumkanäle blockiert werden und dann durch eine chloridarme Lösung und ein Beta-2-Sympathomimetikum die (bisher bekannten) Chloridkanäle aktiviert werden. Dies führt bei Gesunden erst zu einem Abfall und danach wieder zu einem Anstieg der Potentialdifferenz, bis diese weider den Ausgangswert erreicht oder überschreitet. Bei CF-Patienten bleibt aufgrund des c-AMP abhängigen Chloridkanaldefektes der Wiederanstieg der Potentialdifferenz aus

[81,116,156]. Durch diese Methode läßt sich sowohl eine Spezifität als auch eine Sensitivität von über 99 % erzielen [1].

4.5 Fahrradergometrie

Es stellte sich die Frage, inwieweit Faktoren wie eine körperliche Belastung Einfluß auf die nasale Potentialdifferenz haben und ob eventuell die Aussagekraft durch eine Standardisierung verbessert werden könnte.

Wie die Resultate zeigen, führt eine fahrradergometrische Belastung eher zu einer stärkeren Überlappung der Potentialdifferenzwerte von Gesunden und CF-Kranken, da bei den Gesunden häufig ein Anstieg, bei den Kranken jedoch meist keine Änderung zu messen war. Wie Doppelmessungen unter Ruhebedingungen gezeigt haben, kann man von einer Änderung der Potentialdifferenz ausgehen, wenn sich der Wert um mehr als 7 % ändert [63]. Als Schlußfolgerung ergibt sich, daß eine PD-Messung möglichst im Ruhezustand vorgenommen werden sollte. Die von einer australischen Arbeitsgruppe beschriebenen Änderungen der Potentialdifferenz unter körperlicher Belastung konnten von uns nur begrenzt nachvollzogen werden [2]. Bei den CF-Patienten fanden sie vorwiegend ein Absinken der Potentialdifferenz, während bei den hier vorgelegten Messungen sowohl Potentialdifferenzabfälle als auch –anstiege bzw. unveränderte Potentialdifferenzen zu beobachten waren. Der (überwiegende) Anstieg der Potentialdifferenz bei Gesunden läßt sich auch anhand der eigenen Messergebnisse nachvollziehen.

Eine Erklärung für die diskrepanten Resultate bei CF-Patienten war auch bei der Kontaktaufnahme und Diskussion mit den australischen Kollegen nicht zu finden. Möglicherweise spielt eine Perfusionsänderung an der Nasenschleimhaut eine Rolle. Dafür sprechen auch die PD-Untersuchungsergebnisse, die während Fahrradergometrie mit Kaltluftexposition gewonnen wurden, da die Änderungen der PD wesentlich geringer ausgeprägt waren. Möglicherweise wurde die als Folge der Anstrengung verstärkte Perfusion der Nasenschleimhaut zumindest teilweise und passager durch eine kältebedingte Vasokonstriktion kompensiert [47].

Wichtig war es für uns, durch gezielte Kaltluftexposition der Nasenschleimhaut Hinweise auf eine eventuelle Reaktion der PD der Bronchialschleimhaut auf Kälte zu erhalten, ohne daß die Bronchialschleimhaut belastet wurde. Wenn man die verfügbare Literatur über Kaltluftexposition sichtet, fällt auf, daß bei Kaltluftexposition über Gesichtsmaske bronchokonstriktorische Effekte bei Gesunden festgestellt wurden, die bei direkter nasaler Insufflation nicht beobachtet werden konnte [87]. Inwieweit dies reflektorisch durch die Kälteeinwirkung auf die Gesichtshaut bedingt ist, wurde bisher

nicht näher untersucht. Vasgovagale reflektorische Beziehungen sind zumindest bei Nasen- und Bronchialschleimhaut beschrieben [103]. Insofern muß auch überlegt werden, ob auch die in der vorliegenden Arbeit beschriebenen Effekte durch eine „Gesichtskühlung“ beeinflußt wurden.

In der Fahrradergometrie mit Kaltluftexposition ließ sich weder bei Kranken noch bei Gesunden eine signifikante Änderung der Potentialdifferenzmesswerte nachweisen. Körperliche Belastung im Winter dürfte dementsprechend keine ungünstigen Auswirkungen auf den Ionentransport in der Bronchialschleimhaut haben.

Inwieweit eine Adrenalinausschüttung sowohl bei der normalen Fahrradergometrie als auch bei der Kaltluftprovokation eine Rolle spielt, läßt sich mit dieser Untersuchung nicht klären.

4.6 Amiloridpulverinhalation

Im Gegensatz zu den beschriebenen natürlichen Einflußfaktoren mit sehr variabler Reaktion der PD lassen sich auf pharmakologischer Basis eine reproduzierbare (und gewünschte) Verringerung der PD erzielen [76]. Die Applikation eines Amiloridpulvers eröffnet die Möglichkeit, Amilorid zeitsparend zu inhalieren. Die Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß die Inhalation einer ausreichenden Menge von Amiloridpulver (6 Hub) ähnliche Ergebnisse wie die Feuchtinhalation bewirkt [64]. Dies betrifft sowohl die Höhe der Potentialdifferenzsenkung als auch die Dauer dieser "Normalisierung" der Potentialdifferenz. Die hier beschriebene moderne Form der Pulverinhalation bei der schon im Gerät das Medikament selbst vom Träger getrennt („desagglomeriert“) wird, wäre demnach gut geeignet, die zeitlich aufwendige Feuchtinhalation zumindest tagsüber zu ersetzen, insbesondere am Arbeitsplatz, in der Schule oder an Orten, wo eine Feuchtinhalation aufgrund der örtlichen Gegebenheiten schwierig ist. Positiv ist auch die einfache Handhabung des MAG-Halers, die –technisch elegant– gerade Jugendliche fasziniert, und damit die Compliance fördert. Den ca. 30 min. Feuchtinhalation (incl. Reinigung des Inhalationsgerätes) stehen nur ca. 1 min Trockeninhalation mittels des Turbohalers gegenüber. Da damit eine lange anhaltende NaCl- (und Wasser-) Retention im Sekret erzielt wird, ist auch das erwünschte Befeuchten der Atemwege gewährleistet.

Die Nachteile dieser Methode bestehen darin, daß die Physiotherapie, die mit jeder Feuchtinhalation verbunden ist, entfällt. Insofern sollte die Trockeninhalation nur als Ergänzung und nicht als Ersatz für die Feuchtinhalation eingesetzt werden,. Zur Zeit wird angestrebt, die Amiloridkonzentration in der Ringtablette deutlich anzuheben. Dadurch könnte die notwendige Medikamentendosis bereits mit einem oder zwei Hub inhaliert werden.

Das wäre vor allem für Patienten ein Gewinn, die schulisch bzw. beruflich sehr stark eingebunden sind und Mühe haben, ihre Therapie konsequent durchzuführen. Bevorzugt würden Patienten davon profitieren, die über relativ zähes Sekret klagen, das nicht durch Entzündungsprozesse bedingt ist [40], weil bei ihnen eine Verflüssigung des Schleimes mittels Amiloridinhalation gelingen könnte.

4.7 Fazit und Ausblick

Es lässt sich folgende Bilanz ziehen:

Die nasale Potentialdifferenz ist eine Bereicherung der bisherigen diagnostischen Möglichkeiten bei Mukoviszidose. Allerdings unterliegt der Basiswert des gesunden und auch des Mukoviszidose-Patienten recht großen Schwankungen infolge alltäglicher Reize, wie sie durch körperliche Belastung und kalte Luft repräsentiert werden.

Dagegen kann durch den Natriumblocker Amilorid eine gezielte Beeinflussung in Richtung Verminderung der Potentialdifferenz erfolgen. Damit eröffnen sich auch Perspektiven für eine mögliche künftige Prävention, die im Alltag der Patienten realisierbar erscheint.

In nachfolgenden Studien wurde eine weitere Verbesserung der Diagnostik durch Stimulation der bisher bekannten Chlorkanäle angestrebt bzw. bereits realisiert [169]. Darüber hinaus wurden Vorbereitungen dafür getroffen, dass durch höher konzentriertes Amilorid eine Erleichterung der Prävention erfolgen kann (z.B. 4 x 2, anstelle von 4 x 6 Hüben), sofern sich diese Substanz in der Langzeitanwendung bewähren sollte. Eine kontrollierte Studie dazu wurde an den CF-Zentren in Gießen und Hamburg begonnen und wird im Jahre 2002 abgeschlossen sein.

5 Zusammenfassung

Einleitung: Ziel dieser Arbeit war es, zum einen den Stellenwert der Potentialdifferenz im Vergleich mit anderen diagnostischen Methoden zu belegen, zum anderen den Einfluß verschiedener Faktoren wie körperliche Belastung, Kälte und Amiloridpulver festzustellen.

Methode: Die Potentialdifferenz wurde mit Hilfe eines modifizierten klassischen Versuchsaufbaus nach Boucher registriert.

Ergebnisse: Man konnte eine deutliche Sensitivitätserhöhung durch die zusätzliche Durchführung einer Potentialdifferenzmessung in Ergänzung zu einer anderen Diagnostikmethode (Iontophorese, Pankreaselastase, Genanalyse) erreichen. Unter diesen Bedingungen werden nur wenige Patienten unerkannt bleiben. Die Sensitivität bzw. Spezifität hängt von den jeweils verwendeten Grenzwerten ab und liegt bei -40 mV als Trennwert bei 91,2 % (Sens.) / 82,1 % (Spez.) bzw. bei einem Trennwert von -45 mV bei 76,4 % / 93,2 %.

Die Fahrradergometrie führte bei den Gesunden zu einem signifikanten Anstieg der Potentialdifferenz von - 25,7 mV auf -31,1 mV. Bei den CF-Patienten wurde sowohl unter Fahrradergometrie (mit oder ohne Kaltluftbelastung), ebenso wie bei den Gesunden unter Ergometrie mit Kaltluftbelastung keine signifikante Änderung festgestellt.

Durch Gabe von Amiloridpulver ließ sich die Potentialdifferenz senken. Dieser Effekt war dosisabhängig. Desweiteren wurde die Dauer des Potentialdifferenzabfalls überprüft bei den Gruppen mit 3 bzw. 6 Hub Pulveramilorid. Dabei zeigte sich, daß der Abfall bei 6 Hub Pulveramilorid im Mittel um 31,4 min länger anhält als bei der Gruppe mit 3 Hub.

Fazit: Die Ergebnisse belegen, daß eine Potentialdifferenzmessung als zusätzliches Diagnostikum gerade bei grenzwertigen Befunden mit anderen Untersuchungsmethoden sehr hilfreich ist.

Eine körperliche Belastung läßt keine Trennung zwischen den beiden Gruppen zu, sondern führt im Gegenteil zu einer stärkeren Unschärfe. Deswegen sollte die Potentialdifferenzmessung möglichst an einer ruhigen, entspannten Versuchsperson durchgeführt werden.

Es läßt sich ein vergleichbarer Abfall der Potentialdifferenz durch die Applikation von Amilorid in Trockenform erreichen, wie durch Amilorid als Feuchteinhalation.

6 LITERATURVERZEICHNIS

- [1] AG MUKOVISZIDOSE DER GESELLSCHAFT FÜR PÄDITRISCHE PNEUMOLOGIE (2001). Klinischer Stellenwert der modernen elektrophysiologischen Diagnostik bei Mukoviszidose (zystischer Fibrose). Monatsschr Kinderheilkd 149: 258-264

- [2] ALSUWAIDAN S, LI WAN PO A, MORRISON G, REDMOND A, DODGE JA, MCELNAY J, STEWART E, STANFORD CF (1994). Effect of exercise on the nasal transmucosal potential difference in patients with cystic fibrosis and normal subjects. Thorax 49(12): 1249-50

- [3] ANDERSON CM, FREEMANN M (1960). Sweat test results in normal persons of different ages compared with families with fibrocystic disease of the pancreas. Arch Dis Child 35: 581

- [4] ANDERSEN DH (1938). Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to the celiac: A clinical and pathologic study. Am J Dis Child 944

- [5] ANDERSON MP, RICH DP, GREGORY RJ, SMITH AE, WELSH MJ (1991). Generation of cAMP-activated chloride currents by expression of CFTR. Science 251: 679-682

- [6] ANDERSON MP, WELSH MJ (1991). Calcium and cAMP activate different chloride channels in the apical membrane of normal and cystic fibrosis epithelia. Proc Natl Acad Sci 88: 6003-6007

- [7] APP EM, KING M, HELFESRIEDER R, KÖHLER D, MATTHYS H (1990). Acute and long-term Amiloride inhalation in cystic fibrosis lung disease. Am Rev Respir Dis 141: 605-612

- [8] BACONNAIS S, TIROUVANZIAM R, ZAHM JM, DE BENTZMANN S, PEAULT B, BALOSSIER G, PUCHELLE E (1999). Ion composition and rheology of airway liquid from cystic fibrosis fetal tracheal xenografts. *Am J Respir Cell Mol Biol* 20(4): 605-11

- [9] BARGON J, STEIN J, DIETRICH CF, MULLER U, CASPARY WF, WAGNER TO (1999). Gastrointestinal complications of adult patients with cystic fibrosis. *Z Gastroenterol* Aug 37(8): 739-49

- [10] BEDROSSIAN CW, GREENBERG SD, SINGER DB, HANSEN JJ, ROSENBERG HS (1976). The lung in cystic fibrosis. A quantitative study including prevalence of pathologic findings among different age groups. *Hum Pathol* 7(2): 195-204

- [11] BIJAM J, FRÖMTER E (1986). Direct demonstration of high transepithelial chloride conductance in normal human sweat duct which is absent in cystic fibrosis. *Pflügers Arch* 407: 123-127

- [12] BIJMAN J, QUINTON P (1987). Permeability properties of cell membranes and tight junctions of normal and cystic fibrosis sweat ducts. *Pflügers Arch* 408: 505-510

- [13] BOAT TF, WELSH MJ, BEADET AL (1989). Cystic fibrosis. In: Scriver CL, Beaudet AL, Sly WS, Valle D (eds.) *The metabolic basis of inherited disease* (p 2649-80). New York: McGraw-Hill

- [14] BOUCHER RC (1994). Human airway ion transport. Part one. *Am J Respir Crit Care Med* 150: 271-281

- [15] BOUCHER RC (1994). Human airway ion transport. Part two. *Am J Respir Crit Care Med* 150: 581-593

- [16] BOUCHER RC, BROMBERG PA, GATZY JT (1980). Airway transepithelial electric potential in vivo: species and regional differences. J Appl Physiol. Respirat Environ Exercise Physiol 48: 169-176
- [17] BOUCHER RC, CHENG EH, PARADISO AM, STUTTS MJ, KNOWLES MR, EARP HS (1989). Chloride secretory response of cystic fibrosis human airway epithelia; preservation of calcium but not protein kinase C- and A-dependent mechanisms. J Clin Invest 84: 1424-1431
- [18] BOUCHER RC, COTTON CU, GATZY JT, KNOWLES MR, YANKASKAS JR (1988). Evidence for reduced Cl⁻ and increased Na⁺ permeability in cystic fibrosis human primary cell cultures. J Physiol 405: 77-103
- [19] BOUCHER RC, KNOWLES MR, STUTTS MJ, GATZY JT (1983). Epithelial dysfunction in cystic fibrosis lung disease. Lung 161: 1-17
- [20] BOUCHER RC, STUTTS MJ, KNOWLES MR, CANTLEY L, GATZY JT (1986). Na⁺ transport in cystic fibrosis respiratory epithelia. J Clin Invest 78: 1245-1252
- [21] BOWLER IM, KELMAN B, WORTHINGTON D, LITTLEWOOD JM, WATSON A, CONWAY SP, SMYE SW, JAMES SL, SHELDON TA (1995). Nebulized amiloride in respiratory exacerbations of cystic fibrosis: a randomised controlled trial. Arch Dis Child 73: 427-430
- [22] BRAMBATI B, TULUI L, ALBERTI E (1996). Prenatal diagnosis by chorionic villus sampling. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 65(1): 11-6
- [23] BRANCOLINI V, CREMONESI L, BELLONI E, PAPPALARDO E, BORDONI R, SEIA M, RUSSO S, PADOAN R, GIUNTA A, FERRARI M (1995). Search for mutations in pancreatic sufficient cystic fibrosis Italian patients: detection of 90% of molecular defects and identification of three novel mutations. Hum Genet 96(3): 312-8

- [24] BUCHWALD M, TSUI LC, RIORDAN JR (1989). The search for the cystic fibrosis gene. *Am J Physiol* 257 (2 Pt 1): L47-52
- [25] BUSCH R. On the history of cystic fibrosis. *Acta Univ Carol [Med]* 36 (1-4): 13-5
- [26] CADE A, WALTERS MP, MCGINLEY N, FIRTH J, BROWNLEE KG, CONWAY SP, LITTLEWOOD JM (2000). Evaluation of fecal pancreatic elastase-1 as a measure of pancreatic exocrine function in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* (3): 172- 6
- [27] CAROLL TP, SCHWIEBERT EM, GUGGINO WB. CFTR: Structure and function. *Cell Physiol biochem* 3: 388-399
- [28] COGSWELL JJ, REIDON RA, TAYLOR B (1974). Supportive lung disease in sisters mimicking cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 49: 520
- [29] COHN RC, RUDZIENSKI L, PUTNAM RW (1992). In vitro antimicrobial activity of Amiloride analogs against *Pseudomonas*. *Chemotherapy* 38: 232-237
- [30] COLLINS FS, RIORDAN JR, TSUI LC (1990). The cystic fibrosis gene: isolation and significance. *Hosp Pract (Off Ed)*. 25 (10): 47-57
- [31] CORBETT JS, HART JL, JANSEN R, SHEPARD MT, WRIGHT P (1993). Rotary planer multi-dose powder inhaler. *Aerosol Med* 6 (Suppl.): 72
- [32] COTTON, CU, STUTTS MJ, KNOWLES MR (1985). Abnormal apical cell membrane in cystic fibrosis nasal epithelium. *Clin Res* 33: 463
- [33] CUTTING GR (1998). CLC-2 channels and CF. *Pediatr Pulmonology* 17: 123-124

- [34] DANKERT-ROELSE JE, TE MEERMAN GJ (1995). Long term prognosis of patients with cystic fibrosis in relation to early detection by neonatal screening and treatment in a cystic fibrosis centre. *Thorax* 50(7): 712-8
- [35] DEARBORN DG (1976). Water and electrolytes of exocrine secretions. In: Mangos JA, Talamo RC (eds.) *Cystic Fibrosis: Projections to the future* (p 179-192). New York: Symposia Specialists
- [36] DELMARCO A, PRADAL U, CABRINI G, BONIZZATO A, MASTELLA G (1997). Nasal potential difference in cystic fibrosis patients presenting borderline sweat test. *Eur Respir J* 10: 1145-1149
- [37] DEVIDAS S, GUGGINO WB (1997). CFTR: domains, structure and function. *J Bioenerg Biomembr* 29 (5): 443
- [38] DI SANT'AGNESE PA (1953). Exocrine gland dysfunction in cystic fibrosis of the pancreas. *Acta paediatr Stockh* 46:51
- [39] DI SANT'AGNESE P (1973) . Cystic fibrosis (mukoviscidosis). *Am Fam Physician* 7: 102-111
- [40] DOCKTER G, LINDEMANN H (2000). *Mukoviszidose* (3.Aufl.). New York: Georg Thieme-Verlag
- [41] DUPERREX O, BERCLAZ PY, BERTRAND D, LACROIX JS, POCHON N, BELLI D, ROCHAT T (1997). A new device for in vivo measurement of nasal transepithelial potential difference in cystic fibrosis patients and normal subjects. *Eur Respir J* 10(7): 1631-6
- [42] ELBORN JS, SHALE DJ, BRITTON JR (1991). Cystic fibrosis: current survival and population estimates to the year 2000. *Thorax* 46(12): 881-5

- [43] ESTIVILL X, BANCELLS C, RAMOS C (1997). Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. The Biomed CF Mutation Analysis Consortium. *Hum Mutat* 10 (2): 135-54

- [44] FABER S (1944). Pancreatic function and disease in early life. *Arch Path* 37: 238-250

- [45] FANCONI G, UELINGER E, KNAUES S (1936). Das Coeliakiesyndrom bei angeborener zystischer Pankreasfibrose und Bronchiektasien. *Med Wochenschrift* 86,753

- [46] FARRELL PM, KOSOROK MR, LAXOVA A, SHEN G, KOSCIK RE, BRUNS WT, SPLAINGARD M, MISCHLER EH (1997). Nutritional benefits of neonatal screening for cystic fibrosis. Wisconsin Cystic Fibrosis Neonatal Screening Study Group. *N Engl J Med* 337(14): 963-9

- [47] FONTANARI P, BURNETT H, ZATTARA-HARTMAN MC, JAMMES Y (1996). Changes in airway resistance induced by nasal inhalation of cold dry, dry, or moist air in normal individuals *J Appl Physiol* 81: 1739-1742

- [48] FRIZZEL RA, RECHKEMMER G, SHOEMAKER RI (1986). Altered regulation of airway epithelial cell chloride channels in cystic fibrosis. *Science* 233: 558-560

- [49] FRÖMTER E (1990). Die Ionentransportstörung bei der Mukoviszidose. Aktueller Wissensstand. *Pneumologie* 44: 1144-1146

- [50] GIBSON LE, COOKE RE (1959). A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by electrophoreses. *Pediatrics* 23: 545-549

- [51] GOWEN CW, LAWSON EE, GINGRAS-LEATHERMAN J, GATZY JT, BOUCHER RC, KNOWLES MR (1986). Increased nasal potential difference and Amiloride sensitivity in neonates with cystic fibrosis. *J Pediatr* 108: 517-521
- [52] GRAHAM A, HASANI A, ALTON EFWF, MARTIN GP, MARRIOTT C, HODSON ME, CLARKE SW, GEDDES DM (1993). No added benefit from nebulized Amiloride in patients with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 6: 1243-1248
- [53] GUILLOUD-BATAILLE M, DE CROZES D, RAULT G, DEGIOANNI A, FEINGOLD J (2000). Cystic fibrosis mutations: report from the french registry. *Hum Hered* 50 (2): 142-5
- [54] GULLO L, GRAZIANO L, BABBINI S, BATTISTINI A, LAZZARI R, PEZZILLI R (1997). Faecal elastase 1 in children with cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 156(10): 770-2
- [55] HAMOSH ET AL (1993). Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. *N Engl J of Med* 329: 1308-1313
- [56] HAMOSH A, FITZ-SIMMONS SC, MACEK M JR, KNOWLES MR, ROSENSTEIN BJ, CUTTING GR (1998). Comparison of the clinical manifestation of cystic fibrosis in black and white patients. *J Pediatr* 132 (2): 255-9
- [57] HARRIS A (1992). Cystic fibrosis gene. *Brit Med Bullet* 48: 738-753
- [58] HAY JG, GEDDES DM (1985). Transepithelial potential difference in cystic fibrosis. *Thorax* 40: 493-496
- [59] HEPPT W, TASMAN AJ, GOERTTLER K (1993). Diagnostische Zytologie der Nasenschleimhaut. *Allergologie* 16: 2-7

- [60] HIGHSMITH WE, BURCH LH, ZHOU Z, OLSEN JC, BOAT TE, SPOCK A, GORVOY JD, QUITTELL L, FRIEDMAN KJ, SILVERMAN LM, BOUCHER RC, KNOWLES MR (1994). A novel mutation in the cystic fibrosis gene in patients with pulmonary disease but normal sweat chloride concentration. *N Engl J Med* 331: 974-980

- [61] HILL ID, MACDONALD WB, BOWIE MD, IRELAND JD. Cystic fibrosis in Cape Town. *S Afr Med J* 73 (3): 147-9

- [62] HOFMANN T (1994). Kindgerechte Bestimmung der transepithelialen Potentialdifferenz am respiratorischen Epithel der Nase. Inaugural-Dissertation der Justus-Liebig-Universität Gießen

- [63] HOFMANN T, BOHMER O, HÜLS G, TREBRACK HG, BITTNER P, KLINGMULLER V, HEERD E, LINDEMANN H (1997). Conventional and modified nasal potential-difference measurement in cystic fibrosis *Am J Respir Crit Care* 155(6): 1908-13

- [64] HOFMANN T, SENIER I, BITTNER P, HÜLS G, SCHWANDT H-J, LINDEMANN H (1997). Aerosolized Amiloride: Dose effect on nasal bioelectric properties, pharmacokinetics, and effect on sputum expectoration in patients with cystic fibrosis *J Aerosol Medicine* 10: 147-158

- [65] HÜLS G, HOFMANN T, SENIER I, LINDEMANN H (1994). Potentialdifferenz am respiratorischen Epithel: Stellenwert in Diagnostik und klinischer Forschung bei Mukoviszidose. *Atemw-Lungenkrkh* 18: 258-259

- [66] HYAMS DE (1981). Amiloride: a review. *Royal society of medicine, International congress and symposium series* 44: 65-73

- [67] HWANG TC, LU L, ZEITLIN PL, GRUENERT DC, HUGANIR R, GUGGINO WB (1989). Cl⁻channels in CF: lack of activation by protein kinase C and cAMP-dependant protein kinase. *Science* 244: 1351-1353

- [68] JENTSCH TJ, GÜNTHER W. Chloride channels: an emerging molecular picture. *Bio essay* 19: 117-126

- [69] JIANG C, FINKBEINER WE, WIDDICOMBE JH, MCCRAY PB Jr., MILLER SS (1993). Altered fluid transport across airway epithelium in cystic fibrosis. *Science* 262: 424-427

- [70] KAPLAN E, SWACHMAN H, PERLMUTTER AD, RULE A, KHAW K-T, HOLSCLOW DS (1968). Reproductive Failure in males with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 279: 65-69

- [71] KEREM BS, ROMMENS JM, BUCHANAN JA, MARKIEWICZ D, COX TK, CHAKRAVARTI A, BUCHWALD M, TSUI LC (1989). Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 245: 1073-1080

- [72] KEREM E, COREY M, KEREM BS, ROMMENS J, MARKIEWICZ D, LEVISON H TSUI LC, DURIE P (1990). The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis - analysis of the most common mutation ($\Delta F508$) *New Engl J Med* 323: 1517-1522

- [73] KLEYMAN TR, CRAGOE EJ (1988). Amiloride and its analogs as tools in the study of the ion transport. *J Membrane Biol* 105: 1-21

- [74] KNOWLES M, CARSON JL, COLLIER AM, GATZY JT, BOUCHER RC (1981). Measurement of nasal transepithelial electric potential differences in normal human subjects in vivo. *Am Rev Respir Dis* 124: 484-490

- [75] KNOWLES MR, CHURCH NL, WALTNER WE, GATZY JT, BOUCHER RC (1992). Amiloride in cystic fibrosis: safety, pharmacokinetics, and efficacy in the treatment of pulmonary disease. In: Cragoe EJ Jr., Kleyman TR, Simchowicz L (eds.) *Amiloride and its analogs: unique cation transport inhibitors* (p. 301-316). New York: VCV Publishers

- [76] KNOWLES M, CHURCH NL, WALTNER WE, YANKASKAS JR, GILLIGAN P, KING M, EDWARDS L, HELMS RW, BOUCHER RC (1990). A Pilot study of aerosolized Amiloride for the treatment of lung disease in cystic fibrosis. *N Engl J Med* 322: 1189-1194
- [77] KNOWLES M, CLARKE LDVM, BOUCHER RC (1991). Activation by extracellular nucleotides of chloride secretion in the airway epithelia of patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 325: 533-538
- [78] KNOWLES M, GATZY J, BOUCHER R (1981). Increased bioelectric potential difference across respiratory epithelia in cystic fibrosis. *N Engl J Med* 305: 1489-1495
- [79] KNOWLES M, GATZY J, BOUCHER R (1983). Relative ion permeability of normal and cystic fibrosis nasal epithelium. *J Clin Invest* 71: 1410-1417
- [80] KNOWLES MR, MURRAY GF, SHALLAL JA, GATZY JT, BOUCHER RC (1980). Bioelectric properties and ion transport in excised human bronchi. *Physiologist* 23: 100
- [81] KNOWLES MR, PARADISO AM, BOUCHER RC (1995). In vivo nasal potential difference: techniques and protocols for assessing efficacy of gene transfer in cystic fibrosis. *Hum Gene Ther* 6(4): 445-55
- [82] KNOWLES M, STUTTS MJ, SPOCK A, FISCHER N, GATZY JT, BOUCHER RC (1983). Abnormal ion permeation through cystic fibrosis respiratory epithelium. *Science* 221: 1067-1069
- [83] KNOWLES M, STUTTS MJ, YANKASKAS JR, GATZY JT, BOUCHER RC (1986). Abnormal respiratory epithelial ion transport in cystic fibrosis. *Clin Chest Med* 7: 285-297

- [84] KNOWLTON RG, COHEN-HAGUENAUER O, VAN CONG N, FREZAL J, BROWN VA, BARKER D, BRAMAN JC, SCHUMM JW, TSUI LC, BUCHWALD M, DONIS-KELLER H (1985). A polymorphic DNA marker linked to cystic fibrosis is located on chromosome 7. *Nature* 318: 380-382

- [85] KÖHLER D, APP E, SCHMITZ-SCHUHMANN M, WÜRTEMBERGER G, MATTHYS H (1986). Inhalation of Amiloride improves the mucociliary and the cough clearance in patients with cystic fibrosis. *Eur J Respir Dis* 69: 319-326

- [86] KÖHLER D (2000). *Theorie und Praxis der Inhalationstherapie*. Arcis-Verlag

- [87] KOSKELA H, TUIKAINEN H (1995). Facial cooling, but not nasal breathing of cold air induces bronchoconstriction: a study on asthmatic and healthy subjects. *Eur Respir J* 8: 2088-2093

- [88] LANDSTEINER K (1905). Darmverschluss durch eingedicktes meconium. *Pancreatitis Allg. Pathol.* 16, 903

- [89] LASSEN UV, RASMISSEN BE (1978). Use of microelectrodes for measurement of membrane potentials. In: Giebisch, G (ed) *Membrane transport in biology* (p 169-203). Berlin

- [90] LEUS J, VAN BIERVLIET S, ROBBERECHT E (2000). Detection and follow up of exocrine pancreatic insufficiency in cystic fibrosis: a review. *Eur J Pediatr* 159(8): 563-8

- [91] LINDEMANN H (1993). Pulmonaler Verlauf der Mukoviszidose beim Kind. *Atemw.- Lungenkrkh.* 19: 503-509

- [92] LINDEMANN H, BECKER T, BITTNER P, BOLDT A, HOFMANN T, SCHWANDT HJ (1990). Sekretelimination bei CF-Patienten unter Amiloridinhalation. *Pneumologie* 44: 1148-1150

- [93] LINDEMANN H, WUNDERLICH P (1994). Atemwege und Lunge. In: Dockter G, Lindemann H, Wunderlich P, Dittrich-Weber H (eds) Mukoviszidose (p 21.48). Stuttgart: Georg Thieme Verlag
- [94] LINDNER M, WOLF A, MOH B, STEINBACH P, KLEIHAUER E, BARTRAM CR, KULOZIK AE (1992). The spectrum of CFTR mutations in south-west German cystic fibrosis patients. *Hum Genet* Nov 90(3): 267-9
- [95] LOSER, MOLLGAARD A, FOLSCH UR (1996). Faecal elastase 1: a novel, highly sensitive, and specific tubeless pancreatic function test. *Gut* 39(4): 580-6
- [96] LOWE CU, MAY CD, REED SC (1949). Fibrosis of the pancreas in infants and children: a statistical study of clinical and hereditary features. *Am J Dis Child* 78: 349-374
- [97] MALL M, BLEICH M, SCHÜRLEIN M, KÜHR J, SEYDEWITZ HH, BRANDIS M, GREGER R, KUNZELMANN K (1998). Cholinergic ion secretion in human colon requires coactivation by cAMP. *Am J Physiol* 275: G1274-G1281
- [98] MATSUI H, GRUBB BR, TARRAN R, RANDELL SH, GATZY JT, DAVIS CW, BOUCHER RC (1998). Evidence for periciliary liquid layer depletion, not abnormal ion composition, in the pathogenesis of cystic fibrosis airways disease. *Cell* 95(7): 1005-15
- [99] MIDDLETON PG, GEDDES DM, ALTON EFW (1993). Effect of Amiloride and saline on nasal mucociliary clearance and potential difference in cystic fibrosis and normal subjects. *Thorax* 48: 812-816
- [100] MIDDLETON PG, GEDDES DM, ALTON EW (1994). Protocols for in vivo measurement of the ion transport defects in cystic fibrosis nasal epithelium. *Eur Respir J* 7(11): 2050-6

- [101] MUHLEBACH MS, STEWART PW, LEIGH MW, NOAH TL (1999). Quantitation of inflammatory responses to bacteria in young cystic fibrosis and control patients. *Am J Respir Crit Care Med* 160(1): 186-91
- [102] MYLETT J, JOHNSON L, KONWLES M (1994). Alternate therapies for cystic fibrosis. *Sem Respir Crit Care Med* 15: 426-433
- [103] NOLTE D (1998). Asthma 32-35. München: Urban und Schwarzenberg
- [104] NOONE PG, OLIVIER K, KNOWLES MR (1994). Modulation of the ionic milieu of the airway in health and disease. *Annu Rev Med* 45: 421-434
- [105] NUGENT CE, GRAVIUS T, GREEN P, LARSEN JW JR, MACMILLIN MD, DONIS-KELLER H (1988). Prenatal diagnosis of cystic fibrosis by chorionic villus sampling using 12 polymorphic deoxyribonucleic acid markers. *Obstet Gynecol* 71(2): 213-5
- [106] PENKETH AR, WISE A, MEARNs MB, HODSON ME, BATTEN JC (1987). Cystic fibrosis in adolescents and adults. *Thorax* 42: 526-532
- [107] PHILLIPS OP, BISHOP C, WOODS D, ELIAS S. Cystic fibrosis mutations among African Americans in the southeastern United States. *J Natl Med Assoc* 87 (6): 433-5
- [108] QUINTON PM (1983). Chloride impermeability in cystic fibrosis. *Nature* 301: 421-422
- [109] QUINTON PM (1994). Viscosity versus composition in airway pathology. *Am J Respir Crit Care Med* 149: 6-7
- [110] REDDY MM, QUINTON PM (1989). Localisation of Cl-conductance in normal and Cl-impermeability in cystic fibrosis sweat duct epithelium. *Am J Physiol* 257: C727-C735

- [111] REGNIS JA, ROBINSON M, BAILEY DL, COOK P, HOOPER P, CHAN H-K, GONDA I, BAUTOVICH G, BYE PTP (1994). Mucociliary clearance in patients with cystic fibrosis and in normal subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 150: 66-71

- [112] RIGGS AC, SEAQUIST ER, MORAN A (1999). Guidelines for the diagnosis and therapy of diabetes mellitus in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med* 5(6): 378-82.

- [113] RIORDAN JR, ROMMENS JM, KEREM BS, ALON N, ROZMAHEL R, GRZELCZAK Z, LOK S, PLAVSIC N, CHOU JL, DRUMM ML, IANUZZI MC, COLLINS FS, TSUI LC (1989) Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 245: 1066-1073

- [114] ROCHHOLZ EL (1857). *Kinderlied und Kinderspiel aus der Schweiz*. Leipzig: Weber

- [115] ROMMENS JM, IANUZZI MC, KEREM BS, DRUMM ML, MELMER G, DEAN M, ROZMAHEL R, COLE JL, KENNEDY D, HIDAKA N, ZSIGA M, BUCHWALD M, RIORDAN JR, TSUI LC, COLLINS FS (1989). Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 245: 1059-1065

- [116] ROSENSTEIN BJ, CUTTING GR (1998). The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr* 132(4): 589-95

- [117] ROSENSTEIN BJ, LANGBAUM M (1984). Diagnosis. In: Taussig LM (ed.) *Cystic fibrosis* (p 85-114). Stuttgart, New York: Thieme-Stratton

- [118] ROSENSTEIN BJ, ZEITLIN PL (1991). Recent advances in cystic fibrosis. *Curr Opin Pediatr* 3: 392-398

- [119] RYLEY HC, GOODCHILD MC, DODGE JA (1992). Screening for cystic fibrosis. *Brit Med Bulletin* 48: 805-822

- [120] SCHÜLER D, MOERKERK W, WEBER K, WAGNER J, HÜLS G, LINDEMANN H (2001). Potentialdifferenzmessung an der Rektalschleimhaut in vivo. *Pneumologie* 55, Suppl. 1: 77

- [121] SCHWIEBERT EM, BENOS DJ, EGAN ME, STUTTS MJ, GUGGINO WB (1999). CFTR is a conductance regulator as well as a chloride channel. *Physiol Rev* 79: S145-66

- [122] SEALE TW, FLUX M, RENNERT OM (1985). Reproductive defects in patients of both sexes with cystic fibrosis: a review. *Ann Clin Lab Sci* 15(2): 152-8

- [123] SMITH JJ, KARP PH, WELSH, MJ (1994). Defective fluid transport by cystic fibrosis airway epithelia. *J Clin Inv* 93: 1307-1311

- [124] SOLDAN W, HENKER J, SPRÖSSIG C (1997). Sensitivity and Specificity of quantitative Determination of Pancreatic Elastase1 in Faeces of Children. *J Ped Gastroenterol Nutr.* 24: 53-55

- [125] STEIN J, JUNG M, SZIEGOLEIT A, ZEUZEM S, CASPARY WF, LEMBCKE B (1996). Immunoreactive elastase I: clinical evaluation of a new noninvasive test of pancreatic function. *Clin Chem* 42(2): 222-6

- [126] STEPHAN U (1976). Mucoviscidosis; clinical features and treatment. *Prax Pneumol* 30(9):552-5

- [127] STERN M (1999). Projekt Qualitätssicherung. Vortrag auf der 2. Deutschen Mukoviszidose-Tagung, 29-30. Oktober 1999 in Fulda

- [128] STOPPSACK M (2000). Welche Anforderungen werden an ein Neugeborenen-Screening gestellt? Wartburg-Konferenz 2000

- [129] STUTTS MJ, MILGRAM SL, KNOWLES MR, BOUCHER RC (1998).
Molecular link of CFTR to other ion transport processes. *Pediat Pulmonolog* 17: 121

- [130] TABCHARANI JA, ROMMENS JM, HOU YX, CHANG XB, TSUI LC, RIORDAN JR, HANDRAHAN JW (1993). Multi-ion pore behaviour in the CFTR chlorid channel. *Nature* 366: 79-82

- [131] TAUSSIG LM, LANDAU LI, MARKS MI (1984). Respiratory system. In: Taussig LM (ed.) *Cystic fibrosis* (p 115-174). Stuttgart, New York: Thieme-Stratton

- [132] TEN KATE LP (1987). Prenatal diagnosis of cystic fibrosis. *Tijdschr Kindergeneesk* 55(2): 53-63

- [133] TERBRACK HG, GÜRTLER KH, HÜLS G, BITTNER-DERSCH P, KLÖR HU, LINDEMANN H (1996). Humanspezifische fäkale Pankreaselastase bei Kindern. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 144: 901-905

- [134] THOMAS PJ, KO YH, PEDERSEN PL (1992). Altered protein folding may be the molecular basis of most cases of cystic fibrosis. *Febs-Lett* 312: 7-9

- [135] TSUI LC, BUCHWALD M, BARKER D, BRAMAN JC, KNOWLTON R, SCHUMM JW, EIBERG H, MOHR J, KENNEDYD, PLAVSIC N (1985). Cystic fibrosis locus defined by a genetically linked polymorphic DNA-Marker. *Science* 230 (4729): 1054-7

- [136] TSUI LC, DURIE P (1997). Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Hosp Pract* 32 (6): 115-8, 123-9, 134

- [137] TÜMMLER B, ASCHENDORFF A, DARDENNE T, FRYBURG K, MAAS G, HUNDERIESER J (1990). Marker Haplotype association with growth in German cystic fibrosis patients. *Human. Genet* 84: 267-273

- [138] TÜMMLER B, BOSSHAMMER J, BREITENSTEIN S, BROCKHAUSEN I, GUDOWIUS P, HERRMANN C, HERRMANN S, HEUER T, KUBESCH P, MEKUS F, ROMLING U, SCHMIDT KD, SPANGENBERG C, WALTER S (1997). Infections with *Pseudomonas aeruginosa* in patients with cystic fibrosis. *Behring Inst Mitt* (98): 249-55

- [139] TÜMMLER B, STORRS T, DZIADEK V, DORK T, MEITINGER T, GOLLA A, BERTELE-HARMS RM, HARMS HK, SCHRODER E, CLAASS A, RUTJES J, SCHNEPPENHEIM R, BAUER I, BREUEL K, STUHRMANN M, SCHMIDTKE J, LINDNER M, EIGEL A, HORST J, KAISER R, LENTZE MJ, SCHMIDT K, VON DER HARDT H, ESTIVILL X (1996). Geographic distribution and origin of CFTR mutations in Germany. *Hum Genet* 97 (6): 727-31

- [140] ÜNAL-MAELGER ÖH, URBANEK R (1988). Stellenwert der Messung der transepithelialen Potentialdifferenz (PD) am respiratorischen Epithel in der Mukoviszidose-Diagnostik. *Monatsschrift Kinderheilkunde* 136: 76-80

- [141] USSING HH, ZERAHN K (1950). Active transport of sodium as the source of electric current in the short-circuited isolated frog skin. *Acta physiol Scand* 23: 112-127

- [142] VEEZE HJ, HALLEY DJJ, BIJMAN J, DE JONGSTE JC, DE JONGE HR, SINAASAPPEL M (1994). Determinants of mild clinical symptoms in cystic fibrosis patients. *J Clin Invest* 93: 461-466

- [143] VEEZE HJ, SINAASAPPEL M, BIJMAN J, BOUQUET J, DE JONGE HR (1991). Ion transport abnormalities in rectal suction biopsies from children with cystic fibrosis. *Gastroenterology* 101: 398-403

- [144] VISCA A, BIGNAMINI E (1996). Concentration of inhaled amiloride in cystic fibrosis. *Lancet* 347: 1126
- [145] WAGENER JS, KAHN TZ, COPENHAVER SC, ACCURSO FJ (1997). Early inflammation and the development of pulmonary disease in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol Suppl* 16: 267-8
- [146] WAINRIGHT BJ, SCAMBLER PJ, SCHMIDTKE J, WATSON EA, LAW HAI-YANG, FARRALL M, COOKE HJ, EIBERG H, WILLIAMSON R (1985). Localization of cystic fibrosis locus to human chromosome 7cen-q22. *Nature* 318: 384-385
- [147] WALLIS C. Diagnosing cystic fibrosis: blood, sweat and tears. *Arch Dis Child* 76: 85-88
- [148] WALLIS C, LEUNG T, CUBITT D, REYNOLDS A (1997). Stool elastase as a diagnostic test for pancreatic function in children with cystic fibrosis. *Lancet* 350 (9083): 1001
- [149] WELSH MJ (1990). Abnormal regulation of ion channels in cystic fibrosis epithelia. *FASEB J* 4: 2718-2725
- [150] WELSH MJ (1999). 1999 a review. Vortrag beim 13. Annual North American Cystic Fibrosis Conference, Seattle, Washington 7.-10. Oktober 1999
- [151] WELSH MJ. Cystic fibrosis. In: Schultz G (ed) *Molecular biology of membrane disorders* (p 605-623). New York: Plenum Press
- [152] WELSH MJ, SMITH AE (1993). Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell* 73: 1251-1254
- [153] WENTWORTH P, GOUGH J, WENTWORTH JE (1968). Pulmonary changes and cor pulmonale in mucoviscidosis. *Thorax* 23(6): 582-9

- [154] WHEELER WB, COLTON HR (1988). Cystic fibrosis: current approach to diagnosis and management. *Pediatr Rev* 9: 241-248
- [155] WILLUMSEN NJ, DAVIS CW, BOUCHER RC (1989). Cellular Cl-transport in cultured cystic fibrosis airway epithelium. *Am J Physiol* 256: C1045-C1053
- [156] WILSON DC, ELLIS L, ZIELENSKI J, COREY M, IP WF, TSUI LC, TULLIS E, KNOWLES MR, DURIE PR. Uncertainty in the diagnosis of cystic fibrosis: possible role of in vivo potential difference measurements. *J Pediatr* 132 (4): 596-9
- [157] WOOD RE, BOAT TF, DOERSHUK CF (1976). Cystic fibrosis: State of the art. *Am Rev of Respir Dis* 113: 833-878
- [158] YAMASHIRO Y, SHIMIZU T, OGUCHI S, SHIOYA T, NAGATA S, OHTSUKA Y. The estimated incidence of cystic fibrosis in Japan. *J Paediatr Gastroenterol Nutr* 24 (5): 544-7
- [159] ZABNER J, SMITH JJ, KARP PH, WIDDICOMBE JH, WELSH MJ (1998). Loss of CFTR chloride channels alters salt absorption by cystic fibrosis airway epithelia in vitro. *Mol Cell* 2(3): 397-403
- [160] ZAHRADNICEK A, LÖFFLER F (1997). Desagglomeration von feinkörnigen Feststoffen in Gasströmungen. *Verfahrenstechnik* 11: 229-232
- [161] ZIELENSKI J (2000). Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration* 67 (2): 117-33
- [162] ZIELENSKI J, TSUI LC (1995). Cystic fibrosis: genotypic and phenotypic variations. *Annu Rev Genet* 29: 777-807

7 Anhang

Tab.1: Veränderung der Potentialdifferenz durch Fahrradergometrie bei gesunden Probanden (geordnet nach prozentualer Änderung)

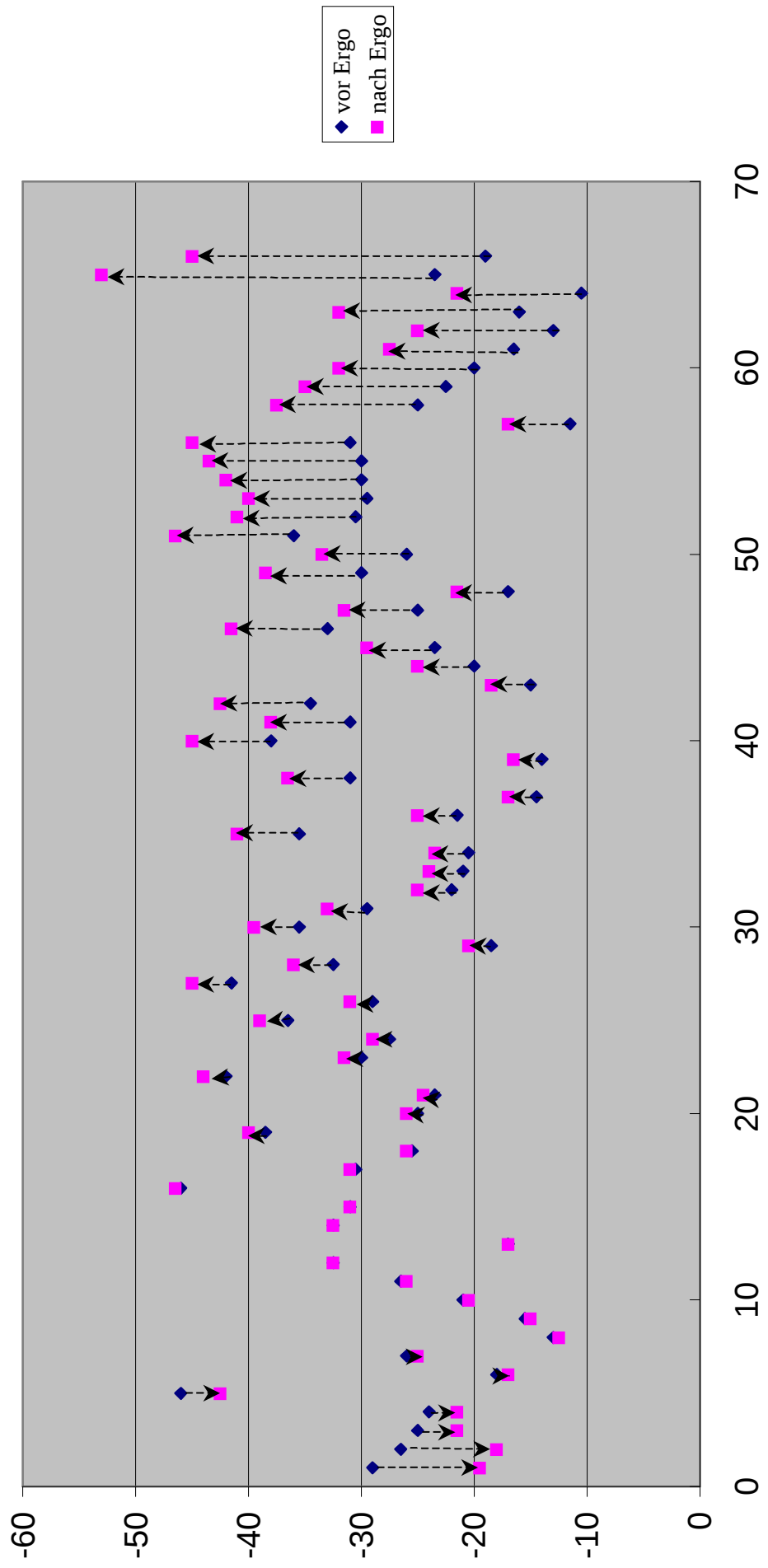
Pb.Nr.	Vor Ergo	Nach Ergo	Diff.	%-Änderung
1	-29	-19,5	-9,5	-32,76%
2	-26,5	-18	-8,5	-32,08%
3	-25	-21,5	-3,5	-14,00%
4	-24	-21,5	-2,5	-10,42%
5	-46	-42,5	-3,5	-7,61%
6	-18	-17	-1	-5,56%
7	-26	-25	-1	-3,85%
8	-13	-12,5	-0,5	-3,85%
9	-15,5	-15	-0,5	-3,23%
10	-21	-20,5	-0,5	-2,38%
11	-26,5	-26	-0,5	-1,89%
12	-32,5	-32,5	0	0,00%
13	-17	-17	0	0,00%
14	-31	-31	0	0,00%
15	-32,5	-32,5	0	0,00%
16	-46	-46,5	0,5	1,09%
17	-30,5	-31	0,5	1,64%
18	-25,5	-26	0,5	1,96%
19	-38,5	-40	1,5	3,90%
20	-25	-26	1	4,00%
21	-23,5	-24,5	1	4,26%
22	-42	-44	2	4,76%
23	-30	-31,5	1,5	5,00%
24	-27,5	-29	1,5	5,45%
25	-36,5	-39	2,5	6,85%
26	-29	-31	2	6,90%
27	-41,5	-45	3,5	8,43%

28	-32,5	-36	3,5	10,77%
29	-18,5	-20,5	2	10,81%
30	-35,5	-39,5	4	11,27%
31	-29,5	-33	3,5	11,86%
32	-22	-25	3	13,64%
33	-21	-24	3	14,29%
34	-20,5	-23,5	3	14,63%
35	-35,5	-41	5,5	15,49%
36	-21,5	-25	3,5	16,28%
37	-14,5	-17	2,5	17,24%
38	-31	-36,5	5,5	17,74%
39	-14	-16,5	2,5	17,86%
40	-38	-45	7	18,42%
41	-31	-38	7	22,58%
42	-34,5	-42,5	8	23,19%
43	-15	-18,5	3,5	23,33%
44	-20	-25	5	25,00%
45	-23,5	-29,5	6	25,53%
46	-33	-41,5	8,5	25,76%
47	-25	-31,5	6,5	26,00%
48	-17	-21,5	4,5	26,47%
49	-30	-38,5	8,5	28,33%
50	-26	-33,5	7,5	28,85%
51	-36	-46,5	10,5	29,17%
52	-30,5	-41	10,5	34,43%
53	-29,5	-40	10,5	35,59%
54	-30	-42	12	40,00%
55	-30	-43,5	13,5	45,00%
56	-31	-45	14	45,16%
57	-11,5	-17	5,5	47,83%
58	-25	-37,5	12,5	50,00%

59	-22,5	-35	12,5	55,56%
60	-20	-32	12	60,00%
61	-16,5	-27,5	11	66,67%
62	-13	-25	12	92,31%
63	-16	-32	16	100,00%
64	-10,5	-21,5	11	104,76%
65	-23,5	-53	29,5	125,53%
66	-19	-45	26	136,84%

x	-26,3	-31,1	4,83	21,98 %
---	-------	-------	------	---------

Abb. 1: Vergleich der PD-Werte vor und nach Ergometrie bei Gesunden



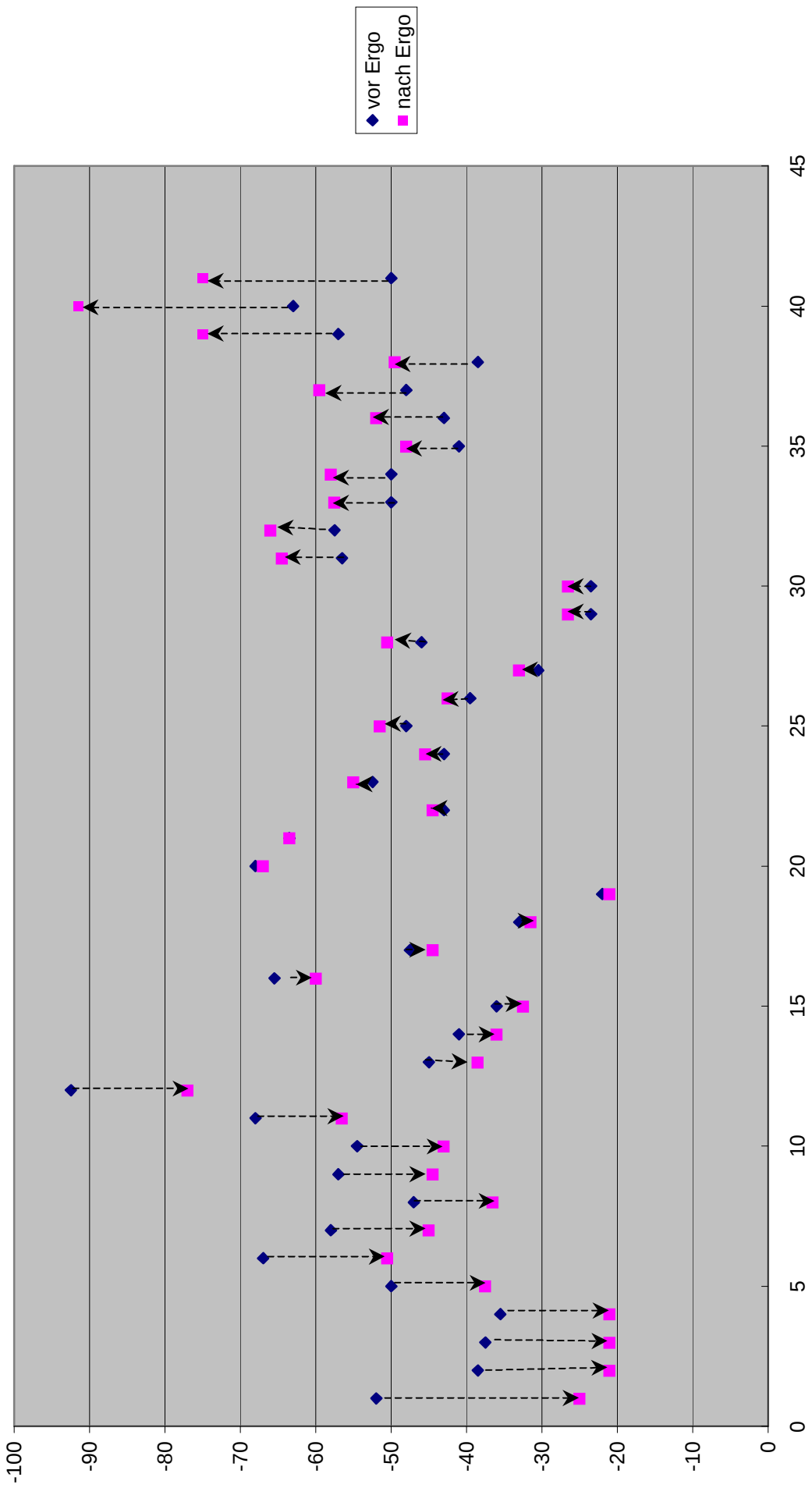
**Tab. 2: Veränderung der Potentialdifferenz durch Fahrradergometrie bei CF-Patienten
(geordnet nach prozentualer Änderung)**

Pat.Nr.	Vor Ergo	Nach Ergo	Diff.	%-Änderung
1	-52	-25	-27	-51,92%
2	-38,5	-21	-17,5	-45,45%
3	-37,5	-21	-16,5	-44,00%
4	-35,5	-21	-14,5	-40,85%
5	-50	-37,5	-12,5	-25,00%
6	-67	-50,5	-16,5	-24,63%
7	-58	-45	-13	-22,41%
8	-47	-36,5	-10,5	-22,34%
9	-57	-44,5	-12,5	-21,93%
10	-54,5	-43	-11,5	-21,10%
11	-68	-56,5	-11,5	-16,91%
12	-92,5	-77	-15,5	-16,76%
13	-45	-38,5	-6,5	-14,44%
14	-41	-36	-5	-12,20%
15	-36	-32,5	-3,5	-9,72%
16	-65,5	-60	-5,5	-8,40%
17	-47,5	-44,5	-3	-6,32%
18	-33	-31,5	-1,5	-4,55%
19	-22	-21	-1	-4,55%
20	-68	-67	-1	-1,47%
21	-63,5	-63,5	0	0,00%
22	-43	-44,5	1,5	3,49%
23	-52,5	-55	2,5	4,76%
24	-43	-45,5	2,5	5,81%
25	-48	-51,5	3,5	7,29%
26	-39,5	-42,5	3	7,59%
27	-30,5	-33	2,5	8,20%
28	-46	-50,5	4,5	9,78%

29	-23,5	-26,5	3	12,77%
30	-23,5	-26,5	3	12,77%
31	-56,5	-64,5	8	14,16%
32	-57,5	-66	8,5	14,78%
33	-50	-57,5	7,5	15,00%
34	-50	-58	8	16,00%
35	-41	-48	7	17,07%
36	-43	-52	9	20,93%
37	-48	-59,5	11,5	23,96%
38	-38,5	-49,5	11	28,57%
39	-57	-75	18	31,58%
40	-63	-91,5	28,5	45,24%
41	-50	-75	25	50,00%

– X	-48,36	-47,44	-0,93	-1,6%
--------	--------	--------	-------	-------

Abb. 2 : Vergleich der PD-Werte vor und nach Ergometrie bei CF-Patienten



Tab.3: Veränderung Potentialdifferenz durch Fahrradergometrie mit Kaltluftexposition bei gesunden Probanden (n = 20; geordnet nach prozentualer Änderung)

Vor Ergo mit Kaltluft	Nach Ergo mit Kaltluft	Diff.	%-Änderung
-36,5	-36	-0,5	-1,37%
-22	-24	2	9,09%
-30,5	-36,5	6	19,67%
-21	-22,5	1,5	7,14%
-25	-23	-2	-8,00%
-28,5	-29,5	1	3,51%
-13,5	-9	-4,5	-33,33%
-17	-27	10	58,82%
-36	-30,5	-5,5	-15,28%
-19,5	-15	-4,5	-23,08%
-38	-32,5	-5,5	-14,47%
-21	-19,5	-1,5	-7,14%
-20	-29	9	45,00%
-23,5	-26,5	3	12,77%
-32	-29,5	-2,5	-7,81%
-34	-34	0	0,00%
-15,5	-13,5	-2	-12,90%
-28,5	-23,5	-5	-17,54%
-20,5	-20,5	0	0,00%
-26,5	-23,5	-3	-11,32%

Tab.4: Veränderung Potentialdifferenz durch Fahrradergometrie mit Kaltluftexposition bei CF-Patienten (n = 18; geordnet nach prozentualer Änderung)

Vor Ergo mit Kaltluft	Nach Ergo mit Kaltluft	Diff.	%-Änderung
-52	-45,5	-6,5	-12,50%
-66,5	-70,5	4	6,02%
-70,5	-65	-5,5	-7,80%
-55	-62,5	7,5	13,64%
-64	-63	-1	-1,56%
-63,5	-60,5	-3	-4,72%
-47,5	-45	-2,5	-5,26%
-73	-56	-17	-23,29%
-71,5	-41,5	-30	-41,96%
-58,5	-37	-21,5	-36,75%
-64	-66	2	3,13%
-51,5	-49	-2,5	-4,85%
-53,5	-51	-2,5	-4,67%
-60	-59,5	-0,5	-0,83%
-75	-72,5	-2,5	-3,33%
-35	-36,5	1,5	4,29%
-70	-51,5	-18,5	-26,43%
-81,5	-82,5	1	1,23%

Tab.5.: Zeitverlauf der PD-Werte bei CF-Patienten nach 3 HubAmiloridpulverinhalation

Mess.	0	10	30	60	75	90	105	120	135	150
1	-67	-35	-35	-36	-50	-52,5	-64,5			
2	-65	-20,5	-20	-35	-37,5	-47	-44	-46	-52,5	-61,5
3	-60	-19,5	-19	-21,5		-19		-30,5	-40	-65
4	-65,5	-30	-30	-31		-36,5	-46	-51,5	-65	
5	-43,5	-19	-18,5	-24,5		-17	-23	-30	-40	
6	-37,5	-15	-10,5	-15,5		-12,5	-17	-24	-35	
7	-58	-21	-35	-49		-45	-47	-51	-54	
8	-42,5	-16,5	-16	-19,5		-23	-31	-35,5	-40	

Tab.6: Zeitverlauf der PD-Werte bei CF-Patienten nach 6 Hub Amiloridpulverinhalation

Mess.	0	10	30	60	90	120	135	150	180	210	240	255
1	-51	-13	-19	-24,5	-38,5	-55,5						
2	-66	-26	-22	-25	-27	-35	-36,5	-63				
3	-47,5	-17,5	-17,5	-22,5	-22,5	-24			-44			
4	-43	-9	-9	-9,5	-10,5	-13		-12	-15	-16,5	-34,5	-47,5
5	-51	-9,5		-13	-17	-35	-37,5	-50				
6	-56,5	-15	-18	-19	-20,5	-25	-29,5	-35	-47	-54		
7	-62,5	-21	-29	-29	-29	-60	-65					

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Andreas Johannes Alfred Krahel
Geburtsdatum: 27. April 1973
Geburtsort: Hanau
Staatsangehörigkeit: deutsch
Anschrift: Josef-Dey-Weg 20, 65929 Frankfurt
Telefon: 069/30069933
Email: andreas.krahel@web.de

Schulbildung:

08/79 – 07/83 Grundschule Dornholzhausen, Bad Homburg
08/83 – 06/92 Gymnasium Humboldtschule, Bad Homburg
25.05.92 Abitur

Zivildienst:

08/92 – 10/93 Jugendfreizeit- und -bildungsstätte „Haus Heliand“, Oberursel

Berufsausbildung:

10/93 – 09/95 Vorklinisches Studium
Justus-Liebig-Universität Gießen
10/95 – 03/99 Klinisches Studium
Justus-Liebig-Universität Gießen
04/99 – 08/99 Praktisches Jahr / Wahlfach Pädiatrie
Universitätsklinikum der Justus-Liebig-Universität Gießen
08/99 – 03/00 Praktisches Jahr / Chirurgie und Innere Medizin
Kliniken des Hochtaunuskreises, Bad Homburg
05/00 3. Staatsexamen
Seit 07/00 AIP in der gastroenterologischen und Mukoviszidoseambulanz für
Kinder des Universitätsklinikums der Johann Wolfgang Goethe-
Universität Frankfurt

Danksagung

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. H. Lindemann danken, der immer ein offenes Ohr für meine Fragen hatte und mich vorbildlich betreut hat.

Mein weiterer Dank gilt den die Mukoviszidosepatienten betreuenden Ärzten Dr. Hüls, Dr. Bittner-Dersch und Dr. Schüler, durch deren Unterstützung zusätzliche Patienten für diese Studie gewonnen werden konnten. Desweiteren danke ich Dr. Hofmann, ohne den in Gießen die Potentialdifferenzmessung sicherlich nicht diesen Stellenwert erlangt hätte. Auch den Lungenfunktionsteams sowohl der Kinderklinik als auch der Klinik Seltersberg gilt mein herzlichster Dank für ihre Unterstützung, ebenso wie allen anderen Doktoranden, mit denen ich zusammenarbeiten durfte (A. Ziersch, C. Geidel, H. Alter).

Selbstverständlich sei an dieser Stelle noch einmal allen CF-Patienten und Versuchspersonen gedankt, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Für die Durchsicht des Manuskriptes danke ich meiner Freundin Julia Berndt und Dr. B. Krackhardt.

Zuletzt möchte ich meinen Eltern für die Unterstützung während der Anfertigung dieser Doktorarbeit sowie während meiner gesamten Studienzeit danken.

Andreas Krahel